

ISSN 0355-1180

HELSINGIN YLIOPISTO

Elintarvike- ja ravitsemustieteiden osasto

EKT-sarja 1924

**Koivun glukuronoksylaanin ja maitoproteiinin
väliset vuorovaikutukset**

Kimmo Peltola

Helsinki 2019

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty Maatalous-metsätieteellinen		Laitos – Institution – Department Elintarvike- ja ravitsemustieteiden osasto
Tekijä – Författare – Author Kimmo Peltola		
Työn nimi – Arbetets titel – Title Koivun glukuronoksylaanin ja maitoproteiinin väliset vuorovaikutukset		
Oppiaine – Läroämne – Subject Elintarviketeknologia		
Työn laji – Arbetets art – Level Maisterintutkielma	Aika – Datum – Month and year Marraskuu 2019	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 76
Tiivistelmä – Referat – Abstract <p>Tutkielman kirjallisuusosassa käsitellään hemiselluloosien sekä maitotuotteissa käytettävien stabilointiaineiden ominaisuuksia ja käyttökohteita. Lisäksi perehdytään proteiinien ja polysakkaridien välisten vuorovaikutusten syntyyn ja niiden vaikutuksiin elintarvikkeiden rakenteeseen. Kokeellisessa osassa vertailtiin koivun glukuronoksylaanin ja arabikumin vaikutuksia maitoproteiinia sisältävän järjestelmän ominaisuuksiin. Kokeellinen osa jakautui kahteen vaiheeseen: vuorovaikutustesteihin ja jogurttimallikokeeseen. Vuorovaikutustestien tavoitteena oli löytää olosuhteet, joissa polysakkaridien ja maitoproteiinin välillä olisi vuorovaikutuksia. Vuorovaikutusten karakterisointiin käytettiin valonsirontaan perustuvaa Turbiscan-analyysia, jonka avulla tutkittiin näytteiden rakenteen pysyvyyttä. Vuorovaikutusten olemassa oloa tutkittiin myös fluoresenssiin perustuvalla menetelmällä sekä zeta-potentiaalin ja sähkönjohtavuuden avulla. Jogurttimallikokeiden näytteistä tutkittiin näytteiden viskositeettia, näytteessä tapahtuvaa heran erottumista sekä näytteiden aistinvaraisia ominaisuuksia.</p> <p>Tutkimuksen tuloksista havaittiin koivun glukuronoksylaanin ja arabikumin vaikuttavan eri lailla maitoproteiinia sisältävän näytteen ominaisuuksiin. Turbiscan-analyysissä havaittiin koivun glukuronoksylaania sisältävän näytteen rakenteen olevan pysyvämpi kuin arabikumia sisältävän näytteen niiden pitoisuuksien ollessa yhtä suuret. Fluoresenssispektroskopiolla tehdyssä analyysissä glukuronoksylaanin havaittiin vaikuttavan arabikumia voimakkaammin näytteen emittoiman säteilyn voimakkuuteen. Tämä voi olla seurausta glukuronoksylaanin ja maitoproteiinin välisistä voimakkaammista vuorovaikutuksista verrattuna arabikumiin. Myös mittaukset näytteiden sähkönjohtavuudesta osoittivat glukuronoksylaanilla olevan mahdollisesti voimakkaampia vuorovaikutuksia maitoproteiinin kanssa kuin arabikumilla. Jogurttimallikokeissa glukuronoksylaania sisältävän näytteen ja vertailunäytteen välillä ei havaittu eroja viskositeetissa. Arabikumia sisältävän näytteen viskositeetti määritettiin matalimmaksi. Kussakin näytteessä tapahtui heran erottumista. Näytteiden aistinvaraisessa arvioinnissa havaittiin samansuuntaisia eroja rakenteen paksuudessa kuin viskositeetin mittauksessa. Jogurttinäytteiden mauissa ei havaittu eroja. Tutkimuksen tulokset antoivat tietoa vuorovaikutusten olemassaolosta. Lisätutkimuksia kuitenkin tarvitaan tarkempien vuorovaikutusmekanismien selvittämiseksi.</p>		
Avainsanat – Nyckelord – Keywords hemiselluloosa, ksylaani, arabikumi, proteiini, jogurtti, stabilointiaine		
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto, Helda		
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information EKT-sarja 1924		

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos – Institution – Department Department of Food and Nutrition	
Tekijä – Författare – Author Kimmo Peltola			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Interactions between birch glucuronoxylan and milk protein			
Oppiaine – Läroämne – Subject Food Technology			
Työn laji – Arbetets art – Level M. Sc. Thesis		Aika – Datum – Month and year November 2019	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 76
Tiivistelmä – Referat – Abstract <p>Literature review of this thesis deals with properties and applications of hemicelluloses and stabilizers used in milk products. In addition, the literature review discusses interactions between proteins and polysaccharides and how they affect properties of food products. In the experimental section, interactions between birch glucuronoxylan and milk protein were compared to interactions between gum Arabic and milk protein. Experimental research included interaction tests between polysaccharides and milk protein and preparation of yoghurt. The aim of interaction tests was to find sample compositions where interactions were present. Protein-polysaccharide interactions were investigated with methods based on light scattering, fluorescence spectroscopy, zeta-potential, and electric conductivity. Viscosities, whey separation and sensory properties of yogurt samples were also studied.</p> <p>This study showed that birch glucuronoxylan and gum Arabic have different effect on samples containing milk proteins. When concentrations of glucuronoxylan and gum Arabic were equal, structure of sample with glucuronoxylan was more stable than structure of sample with gum Arabic. Fluorescence spectroscopy showed that glucuronoxylan affected the emission intensity more than gum Arabic. This may be due to stronger interactions between glucuronoxylan and milk proteins compared to gum Arabic. Electric conductivity measurements also showed similar results. Viscosities of reference yoghurt sample and yoghurt sample with glucuronoxylan did not differ. Viscosity of yoghurt sample with gum Arabic was lower than viscosities of other two samples. Whey separation took place in all samples. In sensory evaluation of yoghurt samples, the thicknesses of reference sample and sample with glucuronoxylan were evaluated similar. Sample with gum Arabic was evaluated the thinnest. There were not observable differences in taste of yoghurt samples.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords hemicellulose, xylan, gum Arabic, protein, yogurt, stabilizer			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited The Digital Repository of University of Helsinki, Helda			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information EKT Series 1924			

ESIPUHE

Tämä maisterintutkielma tehtiin Helsingin yliopistolle yhteistyössä Fortumin ja Valion kanssa. Haluan kiittää Fortumia työn rahoituksesta sekä Valiota mahdollisuudesta valmistaa ja analysoida jogurttinäytteet heidän tiloissaan. Työn valvojana ja ohjaajana toimi Kirsi Mikkonen. Tutkielman ohjaajina toimivat myös Kirsi Rajakari, Matti Sonck ja Satu Kirjoranta. Haluan kiittää työn ohjaajia avusta ja opastuksesta. Kiitän myös Helsingin yliopiston elintarvikkeiden materiaalitieteen tutkimusryhmää ja Jenni Satomaata avusta ja neuvoista tutkielman kokeellisen osan suoritukseen. Lisäksi iso kiitos Inkalle tuesta ja kannustuksesta opiskelujeni aikana.

SISÄLLYSLUETTELO

ESIPUHE	4
1 Johdanto	7
2 KIRJALLISUUSKATSAUS	9
2.1 Jogurtti	9
2.2 Maitotuotteisiin lisättäviä polysakkarideja	10
2.2.1 Arabikumi	10
2.2.2 Guarkumi	11
2.2.3 Johanneksenleipäpuujauhe	11
2.2.4 Karrageeni	12
2.2.5 Pektiini	13
2.3 Hemiselluloosat	14
2.3.1 Rakenne	14
2.3.2 Kemialliset ominaisuudet	17
2.3.3 Sovellukset	18
2.4 Polysakkaridien ja maitoproteiinin väliset vuorovaikutukset	20
2.4.1 Vaikutukset elintarvikkeen rakenteeseen	20
2.4.2 Vuorovaikutukset	22
2.4.3 Vuorovaikutusten karakterisointi	24
3 KOKEELLINEN OSA	27
3.1 Tutkimuksen tausta ja tavoite	27
3.2 Materiaalit ja menetelmät	27
3.2.1 Vuorovaikutustestit	27
3.2.2 Jogurttimallikokeet	31
3.3 Tulokset	34
3.3.1 Vuorovaikutustestit	34
3.3.2 Jogurttimallikokeet	43
3.4 Pohdinta	46
3.4.1 Vuorovaikutustestit	46
3.4.2 Jogurttimallikokeet	50
4 Päätelmät	53
Lähteet	55

Liite 1. Näytteiden GXHMM1–GXHMM8 Turbiscan-analyysit	59
Liite 2. Näytteiden GA1–GA8 Turbiscan-analyysit	63
Liite 3. Näytteiden P3–P5 ja GXHMM9–GXHMM14 Turbiscan-analyysit	67
Liite 4. Tuhkapitoisuuden vaikutus glukuronoksyylia (>5 kDa) sisältävien näytteiden rakenteen pysyvyyteen	72
Liite 5. Jogurtinäytteiden Turbiscan-analyysit	75

1 Johdanto

Lisääntynyt kiinnostus kestävästä kehitystä kohtaan on luonut kysyntää uusiutuvia luonnonvaroja hyödyntäville tuotteille (Bhattarai ym. 2019). Paperi- ja sahateollisuuden sivuvirrat sisältävät runsaasti vielä hyödyntämättä jääviä polysakkarideja (Kishani ym. 2018; Bhattarai ym. 2019). Näistä polysakkarideista kiinnostuksen kohteena ovat erityisesti hemiselluloosat, jotka muodostavat 20–35 % puun kuivapainosta. Hemiselluloosilla on useita potentiaalisia käyttökohteita elintarvike-, lääke- ja kosmetiikkasovelluksissa (Ebringerová 2005; Bhattarai 2019). Erityisesti puun hemiselluloosien käyttö emulgointi- ja stabilointiaineina on ollut tutkijoiden kiinnostuksen kohteena. Puun hemiselluloosien käyttöä elintarvikkeiden lisäaineena rajoittaa tällä hetkellä elintarvikehyväksynnän puute (Pitkänen ym. 2018).

Maitotuotteiden rakenteen pysyvyys määräytyy pääasiassa tuotteessa olevien polysakkariidien ja proteiinien vuorovaikutuksista (Schorsch ym. 1999). Molemmat yhdisteet vaikuttavat elintarvikkeen rakenteeseen ja tekstuuriin muuttamalla elintarvikkeen reologisia ominaisuuksia muodostamalla nano- tai mikrorakenteita (Ghosh ja Bandyopadhyay 2012). Polysakkaridit toimivat elintarvikkeissa stabilointiaineina kasvattamalla vesifaasin viskositeettia (Huber ja BeMiller 2017). Proteiinit toimivat elintarvikkeissa emulgointiaineina vähentämällä faasien välistä rajapintajännitystä (Chuah ym. 2014). Proteiinien avautuminen ja aggregaatio voivat muodostaa elintarvikkeeseen geelimäisen rakenteen, kuten esimerkiksi jogurtissa (McClements 2005). Rakenteiden muodostumiseen vaikuttavat proteiinin koko ja rakenne, nettovaraus vallitsevassa ympäristössä ja vesiliukoisuus (Damodaran 2017).

Proteiini-polysakkaridi kompleksien muodostuminen riippuu polymeerien pitoisuuden lisäksi ympäristön pH:sta, ionivahvuudesta ja lämpötilasta (Ghosh ja Bandyopadhyay 2012). Laimeat proteiinia ja polysakkaridia sisältävät liuokset ovat stabiileja, koska polymeereillä on tilaa hakeutua entropian määräämään järjestykseen (Patino ja Pilosof 2011). Pitoisuuksien kasvaessa polymeerien väliset vuorovaikutukset alkavat vaikuttaa järjestelmän stabiiliuteen. Proteiinin ja polysakkaridin ollessa termodynaamisesti yhteensopimattomia, polymeerien välillä on hylkivää vuorovaikutusta (Douplier ym. 2000). Tämä johtaa järjestelmän hajoamisen kahdeksi faasiksi. Termodynaaminen yhteensopimattomuus on usein seurausta ympäristön pH:sta tai ionivahvuudesta (Corredig ym. 2011; Patino ja Pilosof 2011). Näitä ominaisuuksia muuttamalla voidaan vaikuttaa polymeerien käyttäytymiseen elintarvikkeissa (McClements 2006). Vuorovaikutuksien ollessa toisiaan puoleensa vetäviä, proteiinit

ja polysakkaridit muodostavat komplekseja ionisidosten, vetysidosten tai hydrofobisten vuorovaikutusten avulla (McClements 2006; Patino ja Pilosof 2011).

Proteiinien ja polysakkaridien vuorovaikutusten karakterisointiin voidaan käyttää muun muassa spektroskopiaan tai valonsirontaan perustuvia menetelmiä. Spektroskooppisilla menetelmillä voidaan tutkia proteiinien ja polysakkaridien välisiä puoleensa vetäviä vuorovaikutuksia. Yksi vuorovaikutusten havainnointiin käytetty menetelmä perustuu fluoresenssispektroskopiaan (Perez ym. 2009). Näyte saadaan viritystilaan käyttämällä säteilyä, jonka aallonpituuden tiedetään virittävän proteiineissa esiintyvän tryptofaanin. Järjestelmässä tapahtuvat muutokset, kuten esimerkiksi proteiinien ja polysakkaridien välille syntyvät vuorovaikutukset vaikuttavat voimakkaasti tryptofaanin emittoimaan säteilyyn. Vertailemalla näytteiden emissiospektrejä toisiinsa saadaan tietoa järjestelmässä tapahtuvista muutoksista. Valonsirontaa hyödyntävät tekniikat antavat puolestaan tietoa järjestelmän pysyvyydestä ja partikkelikoosta. Mitä vähemmän valonsironnassa tapahtuu muutoksia ajan funktiona, sitä yhtenäisempi ja pysyvämpi näytteen fysikaalinen rakenne on (Tippets ja Martini 2009).

Kirjallisuustutkimuksessa perehdyttiin hemiselluloosien ja maitotuotteissa käytettävien stabilointiaineiden rakenteellisiin ominaisuuksiin ja mahdollisiin käyttökohteisiin. Lisäksi tutkittiin polysakkaridien ja maidon proteiinien vaikutusta elintarvikkeen rakenteeseen sekä polysakkaridien ja maidon proteiinien välille syntyviä vuorovaikutuksia sekä niiden karakterisointiin käytettäviä menetelmiä. Kokeellisen tutkimuksen tavoitteena oli tutkia koivun glukuronoksyalaanin ja maitoproteiinin välisiä vuorovaikutuksia ja vuorovaikutuksiin vaikuttavia tekijöitä sekä verrata niitä arabikumin ja maitoproteiinin välisiin vuorovaikutuksiin. Vuorovaikutusten lisäksi vertailtiin koivun glukuronoksyalaanin ja arabikumin vaikutuksia jogurtin fysikaalisiin ja aistinvaraisiin ominaisuuksiin.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Jogurtti

Hapatetut maitotuotteet ovat kuuluneet ihmisten ruokavalioon aina kotieläinten kesyttämisestä lähtien (Tamime ym. 2007; Chandan 2013). Maidossa luontaisesti esiintyvät maitohappobakteerit aiheuttivat maidon spontaanin happanemisen (Chandan 2013). Ihmiset havaitsivat ilmiön lisäävän maidon säilyvyyttä, mikä mahdollisti maitotuotteiden varastoinnin ja kuljetettavuuden parantumisen. Vuosien saatossa hapatetuille maitotuotteille muodostui erilaisia ominaispiirteitä valmistusalueen kulttuurin mukaan. Nykyään tunnetaan noin 400 erilaista perinteisesti ja teollisesti valmistettua hapatettua maitotuotetta (Tamime ja Robinson 2007; Chandan 2013).

Maustamaton jogurtti on perinteinen tuote monissa Balkanin ja Lähi-idän maissa (Tamime ym. 2007). Vaikka hapatetut maitotuotteet ovat olleet osana ihmisten ruokavaliota tuhansia vuosia, ne herättivät laajempaa kiinnostusta kuluttajien keskuudessa vasta 1900-luvun alussa, kun jogurtilla havaittiin olevan terveyttä edistäviä ominaisuuksia. Maustettujen jogurttien markkinoille tulo 1950-luvulla muutti jogurtin maineen terveystuotteesta suosituksi välipalatuotteeksi (Tamime ja Robinson 2007). Nykyään erityyppiset jogurtit ovat osa ihmisten ruokavaliota maailman laajuisesti. Vuonna 2017 jogurttia kulutettiin Suomessa 20 kg henkilöä kohden (Luonnonvarakeskus 2018).

Jogurtin puolikiinteä geelimäinen rakenne syntyy maidon kaseiinimisellien aggregaation muodostamasta kolmiulotteisesta verkostosta (Tamime ym. 2007; Chandan 2013). Kaseiinimisellien aggregaatio on seurausta maitohappobakteerien tuottaman maitohapon aiheuttamasta pH:n laskusta. Jogurtin valmistukseen käytetään perinteisesti *Streptococcus thermophilus* ja *Lactobacillus delbrueckii* s.p. *bulgaricus* maitohappobakteereja. Jogurtin rakenteeseen vaikuttavat syntyneen proteiiniverkoston lisäksi maidon rasvapitoisuus, lisätyt stabilointiaineet ja jogurtin valmistustapa (Tamime ym. 2007). Jogurtit voidaan jakaa kahteen eri tyyppiin valmistustavan perusteella: set type -jogurtit ja sekoitejogurtit. Set type -jogurtin hapattaminen tapahtuu suoraan pakkauksissa, kun taas sekoitejogurtti hapatetaan säiliössä, josta se pakataan lopullisiin pakkauksiin. Sekoitejogurtin rakenne hajoaa prosessoinnin aikana, minkä vuoksi sekoitejogurtin viskositeetti on set type -jogurttia matalampi.

Stabilointiaineet tukevat proteiiniverkoston rakennetta sitomalla vettä ja kasvattamalla vesifaasin viskositeettia (Tamime ja Robinson 2007). Stabilointiaineiden tehtävänä on parantaa ja säilyttää jogurtille haluttuja reologisia ja aistittavia ominaisuuksia, kuten viskositeettia ja suutuntumaa sekä estää heran erottumista. Heran erottuminen tarkoittaa vesiliukoisien heraproteiinien erottumista proteiiniverkostosta (Lee ja Lucey 2010). Erottunut hera kerääntyy tuotteen pinnalle erilliseksi faasiksi. Heran erottumista pidetään tuotteen laatua heikentävänä tekijänä. Hera voi erottua heikon proteiiniverkoston tai tuotteeseen kohdistuneen ulkoisen voiman vuoksi. Heran erottumista voidaan vähentää kasvattamalla maidon kuiva-ainepitoisuutta tai lisäämällä tuotteeseen stabilointiaineita parantamaan proteiiniverkoston kestävyyttä.

2.2 Maitotuotteisiin lisättäviä polysakkarideja

2.2.1 Arabikumi

Akasiapuusta saatava arabikumi (akasiakumi) on vanhin käytössä oleva kasvikumi (Nussinovitch ja Hirashima 2014). Akasiapuu menestyy trooppisella ja subtrooppisella vyöhykkeellä, mutta tärkeimmät tuottajamaat sijaitsevat Saharan autiomaan eteläpuolella. Noin 90 % arabikumin tuotannosta sijaitsee Sudanissa. Keskittyneen tuotannon vuoksi sadon suuruuteen vaikuttavat ilmasto-olosuhteiden lisäksi alueen taloudellinen ja poliittinen tilanne (Yadav ym. 2007). Akasiapuun tulee kasvaa vähintään kuusi vuotta ennen kuin siitä saadaan satoa. Puun kuorta vahingoitetaan arabikumin kehittymisen tehostamiseksi (Nussinovitch ja Hirashima 2014). Yhdestä akasiapuusta saadaan vuosittain noin 300 g arabikumia.

Rakenteeltaan arabikumi on haaroittunut vesiliukoinen polysakkaridi. Arabikumin rakenne koostuu galaktopyranoosista, L-arabinoosista, L-ramnoosista, D-glukuronihaposta sekä proteiineista (Akbar ja Shakeel 2016). Arabikumin painosta 80–90 % koostuu arabinogalaktaanista, 10–20 % arabinogalaktaaniproteiineista ja 2–4 % glykoproteiineista (Boyer ym. 2011; Nussinovitch ja Hirashima 2014). Arabikumin molekyylimassa vaihtelee 300 000–580 000 g/mol välillä riippuen arabikumin alkuperästä ja akasiapuun iästä. Arabikumi on vesiliukoinen molekyyli (Nussinovitch ja Hirashima 2014). Alle 10 % arabikumia sisältävän liuoksen viskositeetti on matala ja liuoksella on Newtonisia piirteitä. Arabikumi pitoisuuden noustessa yli 30 % liuoksen viskositeetti kasvaa ja muuttuu leikkausohenevaksi. Arabikumi muodostaa viskooseimman liuoksen pH:n ollessa 5,0–5,5.

Arabikumi on mauton ja hajuton lisäaine (Baray 2009). Arabikumia käytetäänkin laajasti erilaisissa elintarvikkeissa, kuten esimerkiksi juomissa, maitotuotteissa, leipomotuotteissa ja makeisissa emulgointi- ja stabilointiaineena (Baray 2009; Nussinovitch ja Hirashima 2014). Arabikumi parantaa nestemäisten tuotteiden suutuntumaa lisäämällä suspension viskositeettia. Se myös hidastaa emulsioiden kermoittumista. Leipomotuotteissa arabikumia käytetään parantamaan tuotteiden rakennetta ja hyllyikää (Baray 2009). Sokerittomissa makeisissa arabikumia käytetään lisäämään makeisen vesipitoisuutta ja näin vähentämään makeisen hygroskooppisuutta.

2.2.2 Guarkumi

Guarkumi on guar-kasvin (*Cyamoposis tetraganobus L.*) siemenistä saatavaa galaktomannaania (Akbar ja Shakeel 2016). Guar on yksivuotinen palkokasvi, jota on viljelty vuosisatoja Intian ja Pakistanin alueella (Mathur 2012). Intia ja Pakistan tuottavat yhteensä yli 90 % markkinoilla olevasta guarkumista.

Guarkumin rakenne koostuu β -(1 \rightarrow 4) –sitoutuneiden mannopyranosyyliyksiköiden muodostamasta lineaarisesta rungosta, johon on satunnaisesti liittynyt galaktopyranoosiyksiköitä α -(1 \rightarrow 6) –sidoksin (Mathur 2012). Guarkumin molekyylimassa on 1 000 000–2 000 000 g/mol. Mannopyranoosin ja galaktopyranoosin suhde on keskimäärin 2:1, jolloin guarkumi on erittäin vesiliukoinen (Mathur 2012; Akbar ja Shakeel 2016). Galaktopyranoosien määrä vaikuttaa guarkumin liukoisuuteen. Guarkumi ei liukene veteen mannopyranoosin ja galaktopyranoosin suhteen ollessa 6:1 (Mathur 2012). Guarkumi muodostaa jo 0,2 % pitoisuudella viskoosin leikkausohenevan liuoksen.

Guarkumia käytetään elintarvikesovelluksissa emulgointi- ja stabilointiaineena sen vedensidontakyvyn vuoksi (Mathur 2012). Guarkumia käytetään jäätelöissä rakenteen stabilointiin ja ehkäisemään jääkiteiden syntymistä. Nestemäisissä elintarvikkeissa, kuten esimerkiksi keitoissa ja kastikkeissa, guarkumia käytetään lisäämään tuotteen viskositeettia. Leipomotuotteissa guarkumi parantaa tuotteiden aistinvaraista laatua hidastamalla veden haihtumista.

2.2.3 Johanneksenleipäpuujauhe

Johanneksenleipäpuujauhe on johanneksenleipäpuun hedelmien siemenistä peräisin oleva polysakkaridi (Mathur 2012). Johanneksenleipäpuu on hernekasveihin kuuluva kasvi, joka

kasvaa pääasiassa Välimeren alueella. Johanneksenleipäpuu alkaa tuottamaan hedelmiä 10–12 vuoden ikäisenä ja yksi puu tuottaa hedelmiä keskimäärin 200–250 kg vuodessa. Hedelmiä tuotetaan vuodessa 300 000–350 000 tonnia (Wielinga ja Machall 2000).

Johanneksenleipäpuujauhe luokitellaan guarkumin tavoin galaktomannaaniksi (Ravindran ym. 2010). Johanneksenleipäpuujauheen mannopyranoosin ja galaktopyranoosin suhde on keskimäärin 3,5:1 (Mathur 2012). Johanneksenleipäpuujauheen molekyylimassa on 300 000–350 000 g/mol. Polysakkaridin koko vaikuttaa sen vesiliukoisuuteen. Galaktopyranoosien suhteellisen pieni määrä johanneksenleipäpuujauheen rakenteessa jättää lineaariseen runkoon alueita, jotka voivat sitoutua toisiinsa. Näiden vuorovaikutusten vuoksi johanneksenleipäpuujauhe ei liukene kylmään veteen ollenkaan ja kuumaan veteenkin vain osittain. Johanneksenleipäpuujauheen pitoisuuden ollessa matala, se muodostaa veden kanssa leikkausohenevan liuoksen. Pitoisuuden kasvaessa liuoksen virtaavuus muuttuu tiksotrooppiseksi, mikä on yleistä osittain liukeneville polysakkarideille.

Johanneksenleipäpuujauheen käyttökohteet elintarvikesovelluksissa ovat pääasiassa samoja kuin guarkumilla (Ravindran ym. 2010; Mathur 2012). Guarkumi onkin korvannut johanneksenleipäpuujauheen käytön monissa sovelluksissa halvemman hintansa ja paremman saatavuutensa vuoksi. Vuonna 2007 johanneksenleipäpuujauheen markkinahinta oli 10–15 \$/kg, kun guarkumin hinta oli vain 1,5–2,5 \$/kg (Mathur 2012).

2.2.4 Karrageeni

Karrageenit ovat *Rhodophyceae*-punalevistä saatavia polysakkarideja (Imeson 2000; Nussinovitch ja Hirashima 2014). *Rhodophyceae*-punalevien kasvualueita ovat Pohjois-Atlantin rannikot, Chilen ja Perun rannikot sekä Filippiinien ja Indonesian alueen laguunit. Lämpimässä vedessä kasvavista levistä voidaan korjata satoa noin kolmen kuukauden välein, kun taas kylmässä vedessä kasvavista levistä satoa saadaan vain kerran vuodessa.

Karrageenit voidaan jakaa kolmeen pääryhmään niiden rakenteen perusteella: λ -karrageeni, κ -karrageeni ja ι -karrageeni (Imeson 2000; Nussinovitch ja Hirashima 2014). Karrageenien lineaarinen runko koostuu vuorottelevista β -(1 \rightarrow 3) –sitoutuneista D-galaktopyranosyyliyksiköistä, α -(1 \rightarrow 4) –sitoutuneista D-galaktopyranosyyliyksiköistä ja α -(1 \rightarrow 4) –sitoutuneista 3,6-anhydro-D-galaktopyranosyyliyksiköistä (Tasande ja Manriquez-Hernández 2016). Osaan karrageenien D-galaktopyranoosiyksiköistä on esteröitynyt sulfaattiryhmä. Eri

karrageenit eroavat toisistaan rakenteessa olevien 3,6-anhydro-D-galaktopyranosyyksiköiden ja sulfaattiryhmien lukumäärän osalta (Imeson 2000; Tasande ja Manriquez-Hernández 2016). Karrageenien molekyylimassa vaihtelee 100 000–1 000 000 g/mol välillä. Molekyylimassan ollessa pienempi kuin 100 000 g/mol, karrageenit menettävät kykynsä muodostaa geelejä ja lisätä viskositeettia (Nussinovitch ja Hirashima 2014). Karrageenien rakenteiden eroavaisuudet vaikuttavat niiden liukoisuuteen. λ -karrageeni on vesiliukoinen lämpötilasta riippumatta, kun taas κ -karrageeni ja ι -karrageeni liukenevat vain kuumaan veteen ja suolaliuoksiin (Imeson 2000). Karrageenit muodostavat liuetessaan leikkausohenevan liuoksen. Karrageenit kykenevät toimimaan stabilointiaineina jo 0,01–0,05 % pitoisuuksilla. κ -karrageeni ja ι -karrageeni muodostavat geelin pitoisuuden ollessa 1 %.

Karrageenejä käytetään maitotuotteissa stabilointiaineina ehkäisemään faasien erottumista sekä parantamaan tuotteen aistittavaa laatua kuten esimerkiksi suutuntumaa (Imeson 2000). Vähärasvaisissa makkaroissa karrageenien on havaittu parantavan tuotteen rakennetta vaikuttamatta kuitenkaan negatiivisesti tuotteen makuun (Nussinovitch ja Hirashima 2014). Karrageenien vedensidonta kykyä hyödynnetään myös leipomo- ja konditoriatuotteissa (Tasande ja Manriquez-Hernández 2016). Karrageeneista voidaan valmistaa myös syötäviä kalvoja herkästi pilaantuvien tuoretuotteiden kuten, esimerkiksi kuorittujen hedelmien päälle. Kalvo parantaa tuotteen säilyvyyttä toimimalla happibARRIERINA.

2.2.5 Pektini

Pektini on hedelmissä esiintyvä polysakkaridi (May 2000). Pektinin pääasiallinen lähde on appelsiinimehun tai omenamehun valmistuksessa syntyvä puristusjäte. Pektinin tuotanto on keskittynyt Eurooppaan ja Latinalaiseen Amerikkaan.

Pektinin rakenne koostuu α -(1→4) sitoutuneiden D-galaktouronihappojen muodostamasta rungosta sekä sivuhaaroista, jotka sisältävät pääasiassa ramnoosia, galaktoosia ja arabinosia (May 2000; Nieto ja Akins 2011). Elintarvikelaatuisen pektiinin tulee sisältää vähintään 65 % galaktouronihappoa. Osaan rungon galaktouronihapoista on esteröitynyt metoksyyliryhmä. Pektini voidaan jakaa HM-pektiiniin ja LM-pektiiniin esteröityneiden metoksyyliryhmien määrän perusteella. Pektinin esteröitymisasteen ollessa 50 % tai enemmän puhutaan HM-pektiinistä. Esteröitymisasteen ollessa alle 50 % pektiiniä kutsutaan LM-pektiiniksi. Pektinin esteröitymisaste sekä järjestelmän sokeripitoisuus, pH ja lämpötila vaikuttavat pektiinin kykyyn muodostaa geelejä. Mitä korkeampi pektiinin esteröitymisaste on sitä

korkeampi sen geeliytymislämpötila on. HM-pektiini geeliiytyy pH:n ollessa alle 3,5 (Nieto ja Akins 2011). Järjestelmän pH:n laskeminen lisää muodostuvan geelin lujuutta ja nostaa HM-pektiinin geeliytymislämpötilaa (May 2000). Järjestelmän sokeripitoisuuden kasvattaminen puolestaan nostaa HM-pektiinin geeliytymislämpötilaa sekä geeliytymiseen vaadittavaa pH:n arvoa. LM-pektiinin geeliytymiseen vaikuttavat järjestelmän pH ja kalsiumionien pitoisuus (Nieto ja Akins 2011). Kalsiumioneja vaaditaan geeliytymiseen, sillä ne luovat vuorovaikutuksia LM-pektiinimolekyylien välille. Optimi pH alue LM-pektiinin geeliytymiselle on 3,0–5,0. Kalsiumionien pitoisuus korreloi geelin lujuuden kanssa. LM-pektiini kykenee muodostamaan geelin 0–80 % sokeripitoisuuksissa.

Pektiinejä käytetään hilloissa sakeuttamisaineena halutun rakenteen luomiseksi (May 2000). Maitotuotteissa pektiinejä käytetään stabiloimaan ja parantamaan happamien maitotuotteiden rakennetta. Pektiinejä käytetään myös konditoriatuotteiden täytteissä. Pektiineillä voidaan korvata eläinperäinen liivate tuotteissa, joiden happamuus ja sokeripitoisuus mahdollistavat pektiinien geeliytymisen.

2.3 Hemiselluloosat

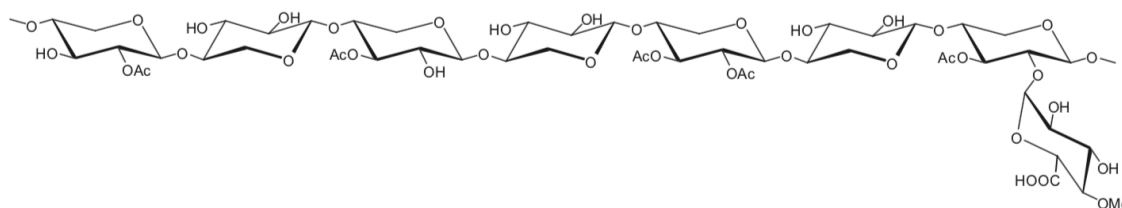
Hemiselluloosat ovat yksi puiden kolmesta tärkeimmästä rakenneaineesta selluloosan ja ligniinin lisäksi (Area ja Popa 2014). Hemiselluloosia ei kuitenkaan hyödynnetä tällä hetkellä yhtä monipuolisesti teollisuuden raaka-aineina kuin selluloosaa, vaan niiden pääasiallinen käyttökohde on energian tuotto (Bhattarai ym. 2019). Kiinnostus uusiutuvia luonnonvaroja kohtaan on lisännyt hemiselluloosien tutkimusta, joilla on niiden rakenteensa puolesta monia potentiaalisia käyttökohteita eri teollisuuden aloilla (Ebringernová ym. 2005).

2.3.1 Rakenne

Hemiselluloosat ovat kasveissa esiintyviä lineaarisia ja haaroittuneita polysakkarideja (Teleman 2009; Area ja Popa 2014). Hemiselluloosat toimivat selluloosan tapaan kasvien soluseinien rakenneaineena. Puut sisältävät hemiselluloosia 20–35 % niiden kuivapainosta. Joidenkin yksisirkkaisten kasvien kuten esimerkiksi viljojen hemiselluloosapitoisuus voi olla jopa 50 % (Ebringernová ym. 2005). Hemiselluloosat muodostuvat pääasiassa viidestä monosakkaridista: D-glukoosista, D-mannoosista, D-galaktoosista, D-ksyloosista ja L-arabinoosista. Rakenteeseen voi kuulua myös pieniä määriä L-ramnoosia ja L-fukoosia sekä tiettyjä uronihappoja kuten 4-O-metyyli-D-glukuronihappoa, D-galakturonihappoa ja

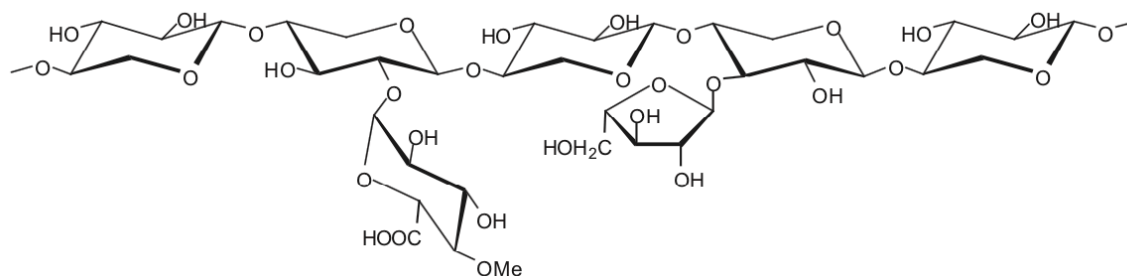
D-glukuronihappoa. Hemiselluloosat ovat suhteellisen pieniä molekyylejä verrattuna selluloosaan; hemiselluloosan polymeroitumisaste on 100–200, kun selluloosan polymeroitumisaste voi olla jopa 10 000 (Area ja Popa 2014; Wang ja Luo 2017).

Puissa esiintyvät hemiselluloosat ovat pääasiassa ksylaaneja ja glukomannaaneja (Teleman 2009). Ksylaanin lineaarinen runko koostuu β -(1 \rightarrow 4) –sitoutuneista D-ksylopyranoosiyksiköistä ja runkoon kiinnittyneistä sivuhaaroista. Glukuronoksyylaani (O-asetyyli-4-O-metyyli-D-glukuronoksyylaani) on yleisin lehtipuissa esiintyvistä hemiselluloosista 15–30 % osuudellaan (Teleman 2009; Wang ja Luo 2017). Glukuronoksyylaanin runkoon on kiinnittynyt α -(1 \rightarrow 2) –sidoksin keskimäärin yksi 4-O-metyyli-D-glukuronihappo 8–20 D-ksylopyranosyyliyksikköä kohden. Osa D-ksylopyranoosien toisen ja kolmannen hiilen hydroksyyliyhdistelmästä on korvautunut asetyyliyhdistelmällä. Asetyyliyhdistelmiä on keskimäärin 4–7 jokaista 10 D-ksylopyranoosia kohden. Kuvassa 1 on esitetty lehtipuissa esiintyvän glukuronoksyylaanin rakenne.



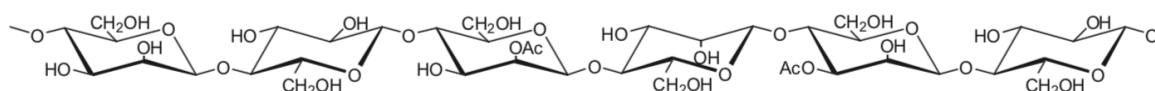
Kuva 1. Lehtipuun glukuronoksyylaanin rakennekuva (Teleman 2009).

Havupuut sisältävät ksylaania noin 7–15 % puun kuivapainosta. Havupuissa esiintyvän arabinoglukuronoksyylaanin runko koostuu glukuronoksyylaanin tapaan β -(1 \rightarrow 4) –sitoutuneista D-ksylopyranoosiyksiköistä (Teleman 2009). Arabinoglukuronoksyylaanin runkoon on kiinnittynyt 4-O-metyyli-D-glukuronihappojen lisäksi L-arabinofuranoosi α -(1 \rightarrow 3) -sidoksella. Arabinoglukuronoksyylaani sisältää keskimäärin yhden 4-O-metyyli-D-glukuronihapon 5–6 D-ksylopyranosyyliyksikköä kohden ja yhden L-arabinofuranoosin 8–9 D-ksylopyranosyyliyksikköä kohden. Havupuiden arabinoglukuronoksyylaani ei sisällä asetyyliyhdistelmiä kuten lehtipuun glukuronoksyylaani. Kuvassa 2 on esitetty havupuissa esiintyvän arabinoglukuronoksyylaanin rakenne.



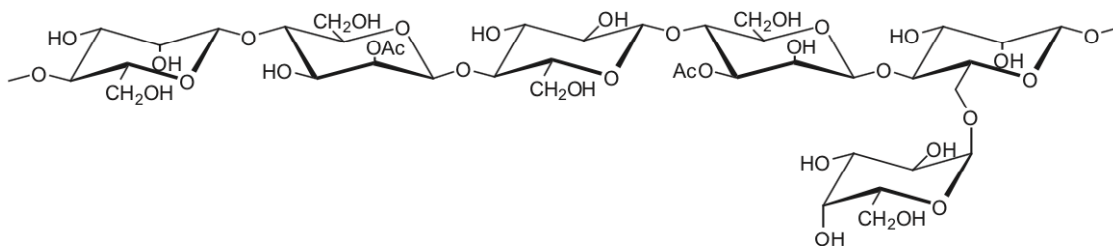
Kuva 2. Havupuun arabinoglukuronoksyalaanin rakennekuva (Teleman 2009).

Glukomannaanien lineaarinen runko koostuu satunnaiseen järjestykseen β -(1 \rightarrow 4) –sidoksilla yhdistyneistä D-mannopyranosyyli- ja D-glukopyranosyyliyksiköistä (Teleman 2009). Rungon D-mannopyranoosiyksiköihin on kiinnittynyt D-galaktopyranoosisivuryhmiä α -(1 \rightarrow 6) – sidoksin. Glukomannaaneissa D-galaktopyranoosisivuryhmien osuus polysakkaridin rakenteesta on alle 15 % (Ebringerová 2006). Kun D-galaktopyranoosisivuryhmien osuus on tätä suurempi, voidaan polysakkaridista käyttää nimeä galaktoglukomannaani. Lehtipuut sisältävät glukomannaania 3–5 % puun kuivapainosta, joka koostuu 33–50 %:sta D-glukopyranoosia ja 50–66 %:sta D-mannopyranoosia puulajista riippuen (Teleman 2009). Galaktoglukomannaania on löydetty haavan kuoresta, mutta yleisesti galaktoglukomannaanin esiintyminen lehtipuissa on harvinaista. Osa glukomannaanin D-mannopyranosyyliyksiköiden toisen ja kolmannen hiilen hydroksyyli ryhmistä on korvautunut asetyyliryhmillä. Kuvassa 3 on esitetty lehtipuissa esiintyvän glukomannaanin rakenne.



Kuva 3. Lehtipuun glukomannaanin rakennekuva (Teleman 2009)

Havupuiden glukomannaanipitoisuus on 15–23 % puun kuivapainosta (Teleman 2009). Havupuissa esiintyvistä glukomannaanista noin 33 % voidaan luokitella galaktoglukomannaaniksi. Lehtipuiden glukomannaanin tapaan myös havupuissa esiintyvä (galakto)glukomannaani sisältää D-mannopyranoosiyksiköiden toiseen tai kolmanteen hiileen kiinnittyneitä asetyyliryhmiä. Asetyyliryhmiä on keskimäärin yksi jokaista 3–6 rungon monosakkaridia kohden. Kuvassa 4 on esitetty havupuissa esiintyvän galaktoglukomannaanin rakenne.



Kuva 4. Havupuun galaktoglukomannaanin rakennekuva (Teleman 2009).

Vehnän oljen hemiselluloosat koostuvat pääasiassa arabinoglukuronoksylaanista (Sun ym. 1996; Sun ym. 2005). Vehnän oljen arabinoglukuronoksyylaani muodostuu havupuissa esiintyvän arabinoglukuronoksylaanin tavoin β -(1 \rightarrow 4) –sitoutuneista D-ksylopyranoosiyksiköistä sekä niihin kiinnittyneistä 4-O-metyyli-D-glukuronihappoista ja L-arabinofuranosyyliyksiköistä (Sun ym. 1996; Teleman 2009). Vehnän oljen arabinoglukuronoksyylaani sisältää noin yhden asetyyliryhmän jokaista 10 D-ksylopyranoosia kohden (Sun ym. 2005).

2.3.2 Kemialliset ominaisuudet

Hemiselluloosien kemiallisella rakenteella on merkittävä vaikutus niiden liukoisuuteen (Kishani ym. 2018). Hemiselluloosan kemialliseen rakenteeseen vaikuttavat alkuperän lisäksi hemiselluloosan eristysprosessi. Hemiselluloosan eristäminen muuttumattomana on hankalaa soluseinämän muiden komponenttien kanssa olevien vuorovaikutusten vuoksi. Ksylaanin runkoon kiinnittyneet uronihapposivuryhmät ovat sitoutuneet soluseinämän ligniiniin esterisidoksin. Sivuryhmien irtoaminen rungosta heikentää hemiselluloosien liukoisuutta (Ebringerová ym. 2005; Teleman 2009). Xu ym. (2007) toteavat galaktoglukomannaanin liukoisuuden olevan yhteydessä siihen kiinnittyneiden D-galaktopyranoosi- ja asetyylisivuryhmien lukumäärään. Asetyylisivuryhmät vaikuttavat myös ksylaanin liukoisuuteen. Ebringerová ym. (2005) mukaan alkaliuutossa irronneet ksylaanin asetyylisivuryhmät tekivät ksylaanista täysin veteen liukenemattoman. Liuoksen pH:n nostaminen 8–8,5 aiheuttaa asetyylisivuryhmien irtoamisen (Kishani ym. 2018). Kishani ym. (2018) havaitsivat tutkiessaan havupuiden hemiselluloosien liukoisuutta galakturonihapon ja ksyloosin pitoisuudella olevan jonkin verran vaikutusta hemiselluloosan liukoisuuteen. Näytteen, jonka galakturonihappo- ja ksyloosipitoisuudet olivat muita näytteitä korkeammat, liukoisuus määritettiin hieman paremmaksi kuin muiden näytteiden liukoisuus. Uronihapon pK_a on noin 3,

jolloin se on negatiivisesti varautunut neutraalissa vesiliuoksessa (Teleman 2009). Varautuneiden sivuryhmien korkeampi määrä lisää hemiselluloosan vesiliukoisuutta.

2.3.3 Sovellukset

Hemiselluloosilla on niiden rakenteellisten ominaisuuksien vuoksi useita potentiaalisia käyttökohteita elintarvike-, lääke- ja kosmetiikkasovelluksissa (Ebringerová 2005; Bhattarai 2019). Erityisesti puun hemiselluloosien käyttö emulgointi- ja stabilointiaineina on ollut tutkijoiden kiinnostuksen kohteena. Kuluttajien lisääntynyt kiinnostus terveellisiä ja luonnollisia elintarvikkeita kohtaan on kasvattanut hydrokolloidien kysyntää (Li ja Nie 2016). Kasvaneen kysynnän vuoksi elintarvikevalmistajat ovat kiinnostuneet halvemmista vaihtoehdoista aikaisemmin käytettyjen hydrokolloidien tilalle (Mikkonen ym. 2016b). Metsäteollisuudessa sivuvirtana syntyvä lignoselluloosa on potentiaalinen hemiselluloosan lähde sen edullisuuden ja hyvän saatavuuden vuoksi (Bhattarai ym. 2019). Puun hemiselluloosien käyttöä elintarvikkeiden lisäaineena rajoittaa tällä hetkellä elintarvikehyväksynnän puute (Pitkänen ym. 2018).

Kuusen galaktoglukomannaanin rakenteen samankaltaisuus jo käytössä olevien mannaanien, kuten esimerkiksi guarikumin, johanneksenleipäpuujauheen ja konjak-glukomannaanin kanssa tekee galaktoglukomannaanista varteenotettavan vaihtoehdon korvaamaan perinteiset hydrokolloidit elintarvikesovelluksissa (Mikkonen ym. 2009). Kuusen galaktoglukomannaanin kykyä stabiloida öljy vedessä emulsioita on verrattu edellä mainittujen mannaanien lisäksi myös arabikumiin ja maissin arabinoksyylaaniin (Mikkonen ym. 2016b). Myös koi-vussa esiintyvän glukuronoksyalaanin stabilointikykyä on tutkittu ja verrattu jo markkinoilla oleviin emulgointiaineisiin (Mikkonen ym. 2016a).

Mikkonen ym. (2016b) havaitsivat tutkimuksessaan galaktoglukomannaanin muodostavan arabikumin ja maissin arabinoksyalaanin tavoin läpikuultamattoman valkoisen ja rakenteeltaan tasaisen öljy vedessä emulsion polysakkaridin ja öljyn suhteen ollessa 1:5. Valmistettujen emulsioiden öljypitoisuus oli 5 m-%. Galaktoglukomannaania ja maissin arabinoksyalaania sisältävät emulsiot pysyivät kolmen kuukauden säilyvyyskokeen aikana visuaalisesti muuttumattomina, kun arabikumia sisältävän emulsion ulkonäkö muuttui säilyvyyskokeen aikana sumeaksi ja läpinäkyväksi. Myös guarikumilla, johanneksenleipäpuujauheella tai konjak-glukomannaanilla stabiloituihin öljy vedessä emulsioihin verrattuna galaktoglukomannaanin käyttö paransi emulsioiden pysyvyyttä (Mikkonen ym. 2009).

Galaktoglukomannaanin on havaittu kykenevän muodostamaan maitomaisen emulsion vielä 60 m-% öljypitoisuudella polysakkaridin ja öljyn suhteen ollessa 1:5 (Mikkonen ym. 2016a). Koivun glukuronoksyalaani muodosti galaktoglukomannaanin tavoin valkoisen maitomaisen emulsion polysakkaridin ja öljyn suhteen ollessa 1:5 ja emulsion öljypitoisuuden ollessa 25 m-%. Näiden tutkimusten perusteella galaktoglukomannaanilla sekä glukuronoksyalaanilla on lupaava tulevaisuus kolloidisten järjestelmien rakenteen stabiloinnissa.

Emulsioiden fysikaalinen stabiilius ei yksin riitä varmistamaan tuotteen säilyvyyttä, mikäli se sisältää helposti hapettuvia monitydyttymättömiä rasvahappoja (Lehtonen ym. 2016). Jotkin polysakkaridit kykenevät emulgointiaineina toimimisen lisäksi ehkäisemään rasvahappojen hapettumista. Lehtonen ym. (2016) vertailivat arabikumin, kuusen galaktoglukomannaanin ja maissin arabinoksyalaanin kykyä ehkäistä rypsiöljyn rasvahappojen hapettumista öljy vedessä emulsiossa. Emulsioiden öljypitoisuudet olivat 5 m-%. Öljynä käytettiin puhdistettua rypsiöljyä, josta oli poistettu öljyssä luontaisesti esiintyvät antioksidantit. Arabikumia käytettiin emulsion valmistuksessa 5 m-%, kun muiden käytettyjen polysakkaridien pitoisuus oli 1 m-%. Tutkimuksessa havaittiin kuusen galaktoglukomannaanin hidastavan rasvahappojen hapettumista tehokkaammin kuin arabikumi tai maissin arabinoksyalaani. Galaktoglukomannaanilla stabiloidun emulsion peroksidiluku ylitti 10 mekv/kg rajan 40 °C:n säilytyslämpötilassa kahdeksan päivää valmistuksen jälkeen, kun arabikumia ja maissin arabinoksyalaania sisältävät emulsioiden peroksidiluku ylitti rajan jo neljäntenä päivänä valmistuksen jälkeen.

Emulsion sisältämien herkästi hapettuvien ainesosien, kuten vitamiinien, aromiaineiden tai monitydyttymättömien rasvahappojen säilyvyyttä voidaan parantaa kapseloimalla ne polysakkaridin sisään. Laine ym. (2010) mikrokapseloivat α -tokoferolia käyttäen arabikumia, galaktoglukomannaania ja näiden sekoitusta suhteessa 1:1. Mikrokapseloinnin tarkoituksena oli ehkäistä α -tokoferolin hapettumista. Mikrokapselit valmistetaan muodostamalla emulsio, joka sisältää kapseloitavaa ainesosaa. Emulsio kuivataan esimerkiksi pakkaskuivauksella tai sumutuskuivauksella, jolloin käytetty polysakkaridi siirtyy lasitilaan muodostaen kapseloitavan ainesosan ympärille suojaavan kerroksen. Galaktoglukomannaanilla ja galaktoglukomannaanin ja arabikumin sekoituksella kapseloidut α -tokoferolit säilyttivät ominaisuutensa merkittävästi paremmin verrattuna arabikumilla kapseloituun α -tokoferoliin. Tutkimus osoitti galaktoglukomannaanilla olevan potentiaalia myös tämän kaltaisissa sovelluksissa.

Mikkonen ym. (2008) ovat tutkineet galaktoglukomannaanin käyttökelpoisuutta biohajovien kalvojen valmistuksessa. Galaktoglukomannaanista valmistettujen kalvojen hapenläpäisevyys on matala, mutta niiden mekaaninen kestävyys on riittämätön pakkausmateriaalikäyttöön. Mikkonen ym. (2008) valmistivat galaktoglukomannaanin ja polyvinyylialkoholin, maissin arabinoksylaanin tai konjak-glukomannaanin sekoituksista kalvoja, joiden vetolujuudet ja murtovenymät määritettiin. Pelkkää galaktoglukomannaania sisältävän kalvon vetolujuus ja murtovenymä olivat matalat kuten aikaisemmat tutkimukset olivat osoittaneet. Konjak-glukomannaanin tai polyvinyylialkoholin lisäyksen havaittiin parantavan kalvon mekaanista kestävyyttä verrattuna pelkästä galaktoglukomannaanista valmistettuun kalvoon.

2.4 Polysakkaridien ja maitoproteiinin väliset vuorovaikutukset

2.4.1 Vaikutukset elintarvikkeen rakenteeseen

Polysakkaridien ja proteiinien vuorovaikutukset on otettava huomioon suunniteltaessa elintarvikkeiden koostumuksia, sillä ne ovat elintarvikkeen rakenteen muodostumisen pääkomponentteja (Corredig ym. 2011). Maitotuotteiden rakenteen pysyvyys määräytyy pääasiassa tuotteessa olevien polysakkaridien ja proteiinien vuorovaikutuksista (Schorsch ym. 1999). Molemmat yhdisteet vaikuttavat elintarvikkeen rakenteeseen ja tekstuuriin muuttamalla elintarvikkeen reologisia ominaisuuksia muodostamalla nano- tai mikrorakenteita (Ghosh ja Bandyopadhyay 2012).

Polysakkarideja käytetään elintarvikkeissa usein lisäämään vesifaasiin viskositeettia (Huber ja BeMiller 2017). Polysakkaridien polymeroitumisaste ja rakenne vaikuttavat niitä sisältävän liuoksen viskositeettiin. Lineaarinen polysakkaridi muodostaa viskoosimman liuoksen kuin haaroittunut polysakkaridi niiden konsentraation ja polymeroitumisasteen ollessa samat. Lineaarisen polysakkaridin vaatima tilavuus liuoksessa on suurempi kuin polymeroitumisasteeltaan samankokoisen haaroittuneen polysakkaridin, mikä lisää lineaaristen polysakkaridien välisiä vuorovaikutuksia samalla lisäten liuoksen viskositeettia.

Proteiinien, kuten gluteenin ja kaseiinin muodostamilla rakenteilla on suuri vaikutus elintarvikkeen aistittaviin ominaisuuksiin (Damodaran 2017). Rakenteiden muodostumiseen vaikuttavat proteiinin koko ja rakenne, nettovaraus vallitsevassa ympäristössä ja vesiliukoisuus. Proteiinit toimivat elintarvikkeissa emulgointiaineina vähentämällä faasiin välistä rajapintajännitystä (Chuah ym. 2014). Proteiinien avautuminen ja aggregaatio voivat muodostaa

elintarvikkeeseen geelimäisen rakenteen, kuten esimerkiksi jogurtissa (McClements 2005). Heraproteiini denaturoituu pastöroinnin seurauksena ja se muodostaa aggregaatteja kaseiinimisellien kanssa. Heraproteiini denaturoituminen alkaa lämpötilan ylittäessä 60 °C, kun kaseiinimisellit pysyvät suhteellisen muuttumattomina aina 100 °C:seen asti (Corredig ym. 2011). Jogurtin valmistuksessa massan pH laskee maitohappobakteerin aineenvaihdunnan seurauksena (McClements 2005). pH:n lasku neutraloi kaseiinimisellejä koossa pitäviä sähköisiävarauksia, mikä saa niiden rakenteen avautumaan. Denaturoituneet kaseiini ja heraproteiini muodostavat kolmiulotteisen verkoston, joka synnyttää jogurtille sille ominaisen geelimäisen rakenteen.

Monien muiden elintarvikkeiden geelimäinen rakenne on seurausta polysakkaridien ja proteiinin vuorovaikutuksesta (Huber ja BeMiller 2017). Geeli muodostuu polymeerien välille syntyvien vetysidosten, ionisidosten sekä van der Waals voimien vaikutuksesta. Muodostunut kolmiulotteinen polymeeriverkosto sitoo elintarvikkeen jatkuvan faasin sisäänsä, jolloin rakenne muuttuu puolikiinteäksi.

Polysakkaridien ja maidon proteiinien vaikutusta elintarvikkeiden rakenteeseen on tutkittu vedensidontakapasiteetin, viskositeetin ja mekaanisten ominaisuuksien avulla. Tutkimuksissa on käytetty yleisesti käytössä olevia polysakkarideja, kuten esimerkiksi guarkumia, johanneksenleipäpuujauhetta, karrageenia ja ksantaanikumia. Galante ym. (2017) tutkivat guarkumin vaikutusta entsymaattisesti saostetun maidon vedensidontakykyyn ja mekaniisiin ominaisuuksiin. Guarkumipitoisuuden ollessa yli 0,05 % (w/v) geelin vedensidontakapasiteetti heikkeni. Guarkumi lisäsi geelin kiinteyttä pitoisuuden ollessa 0,025–0,05 % (w/v). Tätä pienemmät tai suuremmat guarkumipitoisuudet heikensivät geelin rakennetta. Vedensidontakapasiteetin ja kiinteyden pieneneminen oli seurausta proteiiniverkoston rakenteen avautumisesta guarkumin vaikutuksesta.

Bahram-Parvar ja Razavi (2012) tutkivat sakkaroosin ja rasvattoman maitojauheen vaikutusta guarkumia sisältävän liuoksen reologisiin ominaisuuksiin. 0,15 m-% ja 0,35 m-% guarkumia sisältäviin liuoksiin lisättiin joko 15 m-% sakkaroosia tai 11 m-% rasvatonta maitojauhetta. Sekä sakkaroosiin että rasvattoman maitojauheen lisäämisen havaittiin nostavan liuoksen viskositeettia. Sakkaroosin ja rasvattoman maitojauheen havaittiin myös lisäävän liuoksen leikkausohenevuutta. Sakkaroosin viskositeettia lisäävä vaikutus voi perustua vesifaasin viskositeetin kasvuun tai polysakkaridin veden kanssa olevien vuorovaikutusten

heikkenemiseen. Rasvattoman maitojauheen sisältämät proteiinit ovat voineet muodostaa rakenteita polysakkaridin kanssa, jotka vaikuttivat liuoksen viskositeettiin.

Everett ja McLeod (2005) ovat puolestaan tutkineet λ -karrageenin, guarkumin, johanneksenleipäpuujauheen ja ksantaanikumin vaikutuksia jogurtin viskositeettiin ja vedensidontakykyyn. Tutkimuksessa jauhemaisia polysakkarideja lisättiin 0,5–5 g/l rasvatonta maitoa. Polysakkaridit lisättiin maitoon sen pastöroinnin aikana. Pastöroinnin jälkeen seos jäähdytettiin 30 °C:seen ja siihen lisättiin hapate. Jogurtin fermentointi kesti 16 tuntia. Näytteiden näennäinen viskositeetti mitattiin leikkausnopeuden arvolla 10 s⁻¹. λ -karrageenia sisältävän näytteen näennäinen viskositeetti laski λ -karrageenipitoisuuden noustessa yli 1 g/l. Guarkumia ja johanneksenleipäpuujauhetta sisältävien näytteiden näennäinen viskositeetti oli alhaisimmillaan polysakkaridin pitoisuuden ollessa 3 g/l. Korkeimmat näennäisen viskositeetin arvot näille näytteille mitattiin polysakkaridin pitoisuuden ollessa 5 g/l. Ksantaanikumin pitoisuudella ei havaittu olevan vaikutusta näytteen näennäiseen viskositeettiin. λ -karrageenia sisältävän näytteen vedensidontakapasiteetti kasvoi λ -karrageenipitoisuuden noustessa ja se oli korkeimmillaan pitoisuuden ollessa 3 g/l. Guarkumia sisältävän näytteen vedensidontakapasiteetti käyttäytyi samoin ja vedensidontakapasiteetti oli korkeimmillaan guarkumin pitoisuuden ollessa 1 g/l. Johanneksenleipäpuunjauhetta sisältävien näytteiden ja ksantaanikumia sisältävien näytteiden vedensidontakapasiteeteissa ei havaittu samankaltaista trendiä kuin λ -karrageenia sisältävissä näytteissä tai guarkumia sisältävissä näytteissä.

2.4.2 Vuorovaikutukset

Monet elintarvikkeet ovat rakenteeltaan disperssejä järjestelmiä (Walstra 2003). Elintarvikkeiden disperssi faasi koostuu usein hiukkasista, joiden kokoluokka on 1 nm – 1 μ m (McClements 2005). Elintarvikkeissa dispergoituneet hiukkaset voivat olla esimerkiksi aggregoituneita molekyyliä, proteiinimisellejä, emulsiopisaroita tai rasvakiteitä. Dispergoituneiden hiukkasten luonne ja vuorovaikutukset toistensa kanssa määrittävät elintarvikkeen tärkeimmät fysikaalis-kemialliset ja aistinvaraiset ominaisuudet. Vuorovaikutukset hiukkasten välillä voivat olla hylkiviä tai toisiaan puoleensa vetäviä riippuen hiukkasten sähkövarauksista ja rakenteesta.

Proteiini-polysakkaridikompleksien muodostuminen riippuu polymeerien konsentraation lisäksi ympäristön pH:sta, ionivahvuudesta ja lämpötilasta (Ghosh ja Bandyopadhyay 2012).

Laimeat proteiinia ja polysakkaridia sisältävät liuokset ovat stabiileja, koska polymeereillä on tilaa hakeutua entropian määräämään järjestykseen (Patino ja Pilosof 2011). Konsentraatioiden kasvaessa polymeerien väliset vuorovaikutukset alkavat vaikuttaa järjestelmän stabiiliuteen. Proteiinin ja polysakkaridin ollessa termodynaamisesti yhteensopimattomia, polymeerien välillä on hylkivää vuorovaikutusta (Douplier ym. 2000). Tämä johtaa järjestelmän hajoamisen kahdeksi faasiksi. Termodynaaminen yhteensopimattomuus on usein seurausta ympäristön pH:sta tai ionivahvuudesta (Corredig ym. 2011; Patino ja Pilosof 2011). Näitä ominaisuuksia muuttamalla voidaan vaikuttaa polymeerien käyttäytymiseen elintarvikkeessa (McClements 2006). pH vaikuttaa polymeerien funktionaalisten ryhmien sähkövarauksiin (Schmitt ym. 1998). Ympäristön pH:n ollessa matalampi kuin proteiinin isoelektrinen piste, proteiini on positiivisesti varautunut ja se vetää puoleensa negatiivisesti varautuneita polysakkarideja ja päinvastoin (Ghosh ja Bandyopadhyay 2012). pH:n ollessa proteiinin isoelektrisen pisteen tasolla, proteiinin nettovaraus on nolla, jolloin polymeerien välille voi syntyä vain heikkoja ja herkästi hajoavia vuorovaikutuksia (Patino ja Pilosof 2011). Ympäristön pH:n lisäksi sen ionivahvuus vaikuttaa polymeerien nettovarauksiin (Schmitt ym. 1998). Liian korkea ionivahvuus neutraloi polymeerien nettovaraukset, jolloin polymeerien väliset vuorovaikutukset heikkenevät.

Vuorovaikutusten ollessa toisiaan puoleensa vetäviä, proteiinit ja polysakkaridit muodostavat komplekseja ionisidosten, vetysidosten tai hydrofobisten vuorovaikutusten avulla (McClements 2006; Patino ja Pilosof 2011). Proteiinin rakenteen avautuminen esimerkiksi lämpötilan vaikutuksesta mahdollistaa useampien sidosten syntymisen paljastuneiden aminohappojen vuoksi (Ghosh ja Bandyopadhyay 2012). Ionisidoksia voi muodostua polymeerien vastakkaisesti varautuneiden osien välille (Walstra 2003). Vetysidokset ovat sidoksia, jotka muodostuvat vetyatomien ja elektronegatiivisen atomin kuten esimerkiksi hapen tai tyypen välille (Walstra 2003; McClements 2005). Vetysidosten muodostuminen perustuu ionisidosten tapaan vastakkaismerkkisiin sähkövarauksiin, mutta myös polymeerien välillä vaikuttava van der Waalsin voima ja steerinen hylkiminen voivat olla osallisena sidoksen muodostumisessa (McClements 2005).

Hydrofobiset vuorovaikutukset vaikuttavat merkittävästi disperssien järjestelmien fysikaalis-kemiallisiin ominaisuuksiin ja pysyvyyteen (McClements 2005). Hydrofobiset vuorovaikutukset vaikuttavat muun muassa proteiinien kolmiulotteiseen rakenteeseen, misellien muodostumiseen ja pinta-aktiivisten aineiden toimintaan. Polymeerien poolittomat osat ovat termodynaamisesti yhteensopimattomia veden kanssa, joten ne pyrkivät minimoimaan

järjestelmän vapaan energian määrän yhdistymällä toisiinsa samalla parantaen disperssin järjestelmän pysyvyyttä (Walstra 2003; McClements 2005). Hydrofobisten vuorovaikutusten voimakkuus riippuu liuottimena toimivan aineen poolisuudesta sekä lämpötilasta. Järjestelmän rajapintajännitykset pienenevät ja hydrofiiliset vuorovaikutukset heikkenevät, kun jatkuvan faasin poolisuus heikkenee (McClements 2005). Molekyylien välisten hydrofobisten vuorovaikutusten on havaittu voimistuvan lämpötilan noustessa. Lämpötilan nousu aiheuttaa muutoksia molekyylien rakenteisiin, jolloin molekyylien reaktiiviset kohdat tulevat paremmin esille (Schmitt ym. 1998).

2.4.3 Vuorovaikutusten karakterisointi

Proteiinien ja polysakkaridien vuorovaikutusten karakterisointiin käytetään monia menetelmiä. Mikroskopialla voidaan tutkia proteiini-polysakkaridikompleksien muodostamia rakenteita (Doublier ym. 2000). Spektroskooppisilla menetelmillä voidaan havaita, onko proteiinin ja polysakkaridin välillä puoleensa vetävää vuorovaikutusta. Valonsirontaa käyttävät tekniikat antavat puolestaan tietoa järjestelmän partikkelikoosta ja pysyvyydestä. Taulukossa 1 on esitettyä proteiinien ja polysakkaridien vuorovaikutusten karakterisointiin käytettyjä menetelmiä.

Proteiinien ja polysakkaridien muodostamia mikrorakenteita voidaan tarkastella konfokaalimikroskoopilla (confocal laser scanning microscopy, CLSM) (Schorsch ym. 1999). Kuvan kontrastin parantamiseksi näyte voidaan värjätä. Schorch ym. (1999), Traves ym. (2005) ja Galante ym. (2017) käyttivät tutkimuksissaan näytteiden värjäämiseen Rhodamine B:tä. Perez ym. (2009) puolestaan leimasivat näytteessä olevan heraproteiinin fluoresoivalla 8-aniliininaftaleeni-1-sulfonihapolla (ANS). Cheng ym. (2005) käyttivät värjäykseen fluorokromia sekä niilinpunaista. Väriaineet kiinnittyivät proteiinien pinnalle, jolloin proteiinien muodostamaa verkostoa voitiin tarkastella mikroskoopin avulla.

Proteiinien ja polysakkaridien toisiaan puoleensa vetäviä vuorovaikutuksia voidaan tutkia absorptiospektroskopialla (Perez ym. 2009; Rohart ym. 2015; Khalesi ym. 2016). Menetelmä perustuu liuoksen optisen tiheyden muutokseen. Liuokseen lisätään metyleenisinistä, joka muodostaa negatiivisesti varautuneiden polysakkaridien kanssa metakromaattisia komplekseja. Myös maidon proteiinit voivat muodostaa komplekseja metyleenisinisen kanssa liuoksen pH:n ollessa 7, koska maidon proteiinit ovat tällöin negatiivisesti varautuneita (Rohart ym. 2015). Metyleenisinisen optinen tiheys on suurimmillaan valon

aallonpituuden ollessa 664 nm. Optinen tiheys kuvastaa liuoksessa vapaana olevien molekyylien määrää. Kun liuokseen lisätään polysakkarideja, liuoksen optinen tiheys aallonpituudella 664 nm pienenee muodostuvien metakromaattisten kompleksien vuoksi. Mikäli liuokseen lisättävällä proteiinilla on vuorovaikutuksia polysakkaridin kanssa, liuoksen optinen tiheys kasvaa vapautuvien metyleenisinisen molekyylien vuoksi.

Myös fluoresenssispektroskopia soveltuu proteiinien ja polysakkaridien välisten vuorovaikutusten havainnointiin. Menetelmä perustuu näytteen viritystilan purkautumisesta syntyvän säteilyn intensiteetin muutokseen (Perez ym. 2009; Cheng ym. 2015). Näyte saadaan virittämään 295 nm aallonpituudella, joka vastaa proteiinien sisältämän tryptofaanin viritysaallonpituutta. Muutokset viritystilan purkautumisesta syntyvän säteilyn emissiospektrissä aallonpituuksilla 310–450 nm antavat tietoa vuorovaikutusten olemassaolosta. Tryptofaanin fluoresenssin tiedetään olevan herkkä ympäristössä tapahtuville muutoksille, joten emissiospektrissä tapahtuvien muutosten voidaan ajatella johtuvan proteiinien ja polysakkaridien välille syntyvistä vuorovaikutuksista. Emittoituvan säteilyn intensiteetti heikkenee proteiinien ja polysakkaridien välisten vuorovaikutusten lisääntyessä.

Järjestelmän rakenteen pysyvyyttä voidaan ennustaa zeta-potentiaalin avulla (Mengual ym. 1999). Zeta-potentiaalin mittaamisella saadaan tietoa järjestelmässä olevien polymeerien sähkövarauksista, joiden olemassaolo mahdollistaa proteiinien ja polysakkaridien väliset vuorovaikutukset (Klein ym. 2010). Menetelmä ei kuitenkaan anna tarkkaa tietoa järjestelmässä olevista rakenteista (Mengual ym. 1999). Valonsirontaan perustuvilla menetelmillä voidaan havaita tarkemmin järjestelmän koostumus, kuten esimerkiksi dispergoituneiden hiukkasten koot sekä niiden jakautuminen jatkuvaan faasiin. Seuraamalla valonsironnassa tapahtuvia muutoksia ajan funktiona, saadaan tietoa järjestelmän rakenteen pysyvyydestä.

Taulukko 1. Proteiinien ja polysakkaridien vuorovaikutusten karakterisointiin käytettyjä menetelmiä

Menetelmät	Proteiini / polysakkaridi	Viite
Konfokaalimikroskopia (CLSM)	Misellaarinen kaseiini / johanneksenleipäpuujauhe	Schorsch ym. 1999
Konfokaalimikroskopia (CLSM) Fluoresenssispektroskopia Absorptiospektroskopia	Heraproteiini konsentraatti / natriumalginaatti, karrageeni	Perez ym. 2009
Konfokaalimikroskopia (CLSM)	Rasvaton maitojauhe / guarkumi	Galante ym. 2017
Konfokaalimikroskopia (CLSM) Fluoresenssispektroskopia Wilhelmyn levy -menetelmä	Rasvaton maitojauhe / karboksimeetyyliselluloosa, guarkumi	Cheng ym. 2015
Pyyhkäisyelektronimikroskopia	Heraproteiini konsentraatti, natriumkaseinaatti / gellaanikumi	Picone ja da Cunha 2010
Zeta-potentiaali Affiniteetti kapillaarielektrofo- reesi Wilhelmyn levy -menetelmä	β -laktoglobuliini / arabikumi	Boyer ym. 2011
Absorptiospektroskopia Zeta-potentiaali Pintajännitys	Heraproteiini isolaatti / angumkumi	Khalesi ym. 2016
Zeta-potentiaali Emulsion sameus	Rasvaton maitojauhe / karrageeni	Tippetts ja Martini 2012

3 KOKEELLINEN OSA

3.1 Tutkimuksen tausta ja tavoite

Glukuronoksyylaanilla on rakenteensa perusteella potentiaalia toimia rakenteenparantajana erilaisissa elintarvikkeissa kuten esimerkiksi maitotuotteissa. Työn tavoitteena oli tutkia koivun glukuronoksylaanin ja maitoproteiinin välisiä vuorovaikutuksia ja vuorovaikutuksiin vaikuttavia tekijöitä sekä verrata niitä arabikumin ja maitoproteiinin välisiin vuorovaikutuksiin. Lisäksi tavoitteena oli tarkastella glukuronoksylaanin ja arabikumin vaikutuksia jogurtin rakenteeseen ja aistinvaraisiin ominaisuuksiin. Arabikumi valittiin vertailupolysakkaridiksi sen käytön yleisyyden vuoksi. Arabikumi soveltuu ominaisuuksiensa puolesta moniin erilaisiin elintarvikesovelluksiin. Lisäksi Helsingin yliopistolla on käytetty arabikumia yhtenä vertailupolysakkaridina hemiselluloosien tutkimuksessa.

3.2 Materiaalit ja menetelmät

3.2.1 Vuorovaikutustestit

Materiaalit

Näytteiden valmistukseen käytettiin Valion valmistamaa laktoositonta maitoproteiinijauhetta (Eila MPC60), jonka proteiinipitoisuus oli 61,6 %, tuhkapitoisuus 7,1 % ja rasvapitoisuus 0,95 %. Tutkittavina hemiselluloosina käytettiin etanolisaostettua koivun glukuronoksylaania (Fortum, Suomi), josta oli suodatettu pois alle 5 kDa kokoiset molekyylit, koko fraktion sisältävää etanolisaostettua koivun glukuronoksylaania (Fortum, Suomi) ja vehnän oljen hemiselluloosaa (Fortum, Suomi). Vertailupolysakkaridina työssä käytettiin arabikumia (Special Ingredients, Iso-Britannia). Näytteiden tuhkapitoisuuden säätöön käytettiin maitosuolajauhetta (Valio Milk Mineral Powder). Maitosuolan tuhkapitoisuus oli 41 % ja se sisälsi laktoosia 45 %. Tuhkapitoisuus vaikuttaa näytteen ionivahvuuteen, joka on merkittävä tekijä proteiinin ja polysakkaridin välisten vuorovaikutusten synnyssä. Näytteiden pH:n laskemiseen käytettiin glukonodeltalaktonia (GDL) (Sigma-Aldrich, Yhdysvallat). Näytteissä käytettiin säilöntäaineena kaliumsorbaattia (Kemira Chemsolutions).

Näytteet

Vuorovaikutustestien näytteiden valmistukseen käytettiin maitoproteiinijauheesta, polysakkarideista ja maitosuolasta valmistettuja kantaliuoksia. Maitoproteiinijauheesta valmistettiin

10 % (w/v) vahvuinen liuos. Liuokseen lisättiin 0,03 % (w/v) kaliumsorbaattia ehkäisemään mikrobien kasvua. Polysakkaridiliuoksen vahvuus oli 5 % (w/v). Maitosuolasta valmistettiin liuos, jonka ionivahvuus oli 1 M. Kantaliuosten valmistaminen aloitettiin punnitsemalla analyysivaa'alla (ME204, Mettler Toledo) jauhemaista raaka-ainetta erlenmeyerpulloon. Erlenmeyerpulloon lisättiin tarvittava määrä ionivaihdettua vettä mittalasilla mittaamalla. Kantaliuoksia sekoitettiin magneettisekoittajalla yön yli huoneenlämmössä jauheiden liukenemisen varmistamiseksi. Maitoproteiini jauheen liukenemiseksi kantaliuosta sekoitettiin aluksi 50 °C:n lämpötilassa 2 h ajan ennen siirtoa huoneenlämpöön. Maitoproteiini jauhe ei liennut veteen huoneenlämmössä, minkä vuoksi liuosta lämmitettiin liukoisuuden parantamiseksi. Fang ym. (2011) havaitsivat tutkimuksessaan maitoproteiini jauheen säilytysajan ja säilytyslämpötilan vaikuttavan sen liukoisuuteen. Tutkimuksessa maitoproteiini jauheen liukoisuuden havaittiin olevan korkein 50 °C:n lämpötilassa riippumatta säilytysajasta tai säilytyslämpötilasta.

Näytteet valmistettiin automaattipipettiä käyttämällä kierrekorkillisiin koeputkiin. Valmistettujen näytteiden tilavuus oli 25 ml. Näytteiden proteiinipitoisuus oli 3,7 %, joka on yleinen jogurtin valmistukseen käytettävän maidon proteiinipitoisuus. Polysakkaridipitoisuuksina vuorovaikutustesteissä käytettiin pitoisuuksia 0–0,5 %. Pitoisuuden ylärajaksi valittiin 0,5 %, koska tätä suuremmat hemiselluloosapitoisuudet tuovat lopputuotteeseen ei toivottua ruskeaa väriä. Näytteiden tuhkapitoisuuksiin laskettiin mukaan maitoproteiini jauheen ja maitosuolan sisältämät mineraalit. Hemiselluloosajauheessa olleita mineraaleja ei otettu huomioon kokonaistuhkapitoisuudessa. Näytteiden tuhkapitoisuus vaihteli 0,43–1,4 % välillä. Jogurtin valmistuksessa käytettävän maidon yleinen tuhkapitoisuus on noin 0,8 %. Näytteisiin, joiden rakenteen haluttiin geelittyvän lisättiin 1 % glukonodeltalaktonia. Glukonodeltalaktonia käytettiin mallintamaan jogurtinvalmistuksessa tapahtuvaa hapatusta. Glukonodeltalaktoni hydrolysoituu veden vaikutuksesta glukonihapoksi (Wang ym. 2012; Huber ja BeMiller 2017). Lucey ym. 1998 ja Lucey ym. 2000 ovat käyttäneet 1–1,3 % glukonodeltalaktonipitoisuuksia tutkiessaan maitogeelien ominaisuuksia. 1 % glukonodeltalaktoni lisäyksellä näytteiden pH laski noin 4,6:een.

Näytteiden valmistus aloitettiin pipetoimalla koeputkeen tarvittava määrä proteiinikantaliuosta. Tämän jälkeen koeputkiin lisättiin polysakkaridiliuos ja maitosuolaliuos. Lopuksi koeputkiin lisättiin ionivaihdettua vettä. Mittaukset suoritettiin analyysistä riippuen huoneenlämmössä (21 °C) tai 40 °C:een lämpötilassa.

Menetelmät

Näytteiden analysointiin käytettiin pääasiassa Turbiscan Lab -laitetta (Formulacion, Ranska) ja Turbisoft Lab -ohjelmistoa (v. 2.2.0.82-5). Turbiscan Lab -laitteella tehtävä analyysi perustuu 880 nm aallonpituudella säteilevään valonlähteeseen ja kahteen ilmaisimeen, jotka mittaavat näytteen läpi kulkeutuneen valon (transmission) sekä näytteestä takaisinsironneen valon (backscattering) intensiteettiä näyteastian korkeuden funktiona. Näyteastioina käytettiin Turbiscanin lasisia kyvettejä, joiden näytetilavuus on 20 ml. Näytteistä määritettiin säilytyksen aikana tapahtuvia muutoksia kuten faasien erottumista. Saadun datan perusteella näytteet voitiin asettaa järjestykseen niiden rakenteen pysyvyyden perusteella. Vuorovaikutustesteissä käytetyt näytteet ovat esitettynä taulukossa 2. Jokaiselle näytteelle valmistettiin yksi rinnakkainen näyte. Vuorovaikutustestit aloitettiin tutkimalla yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävän glukuronoksyalaanin (GXHMM) ja arabikumin (GA) vaikutuksia näytteiden pysyvyyteen kahdella eri polysakkaridi- ja tuhkapitoisuudella pH:n arvoissa 4,6 ja 6,7 (näytteet GXHMM1–GXHMM8 ja GA1–GA8). Lisäksi tutkittiin pelkästään maitoproteiinijauheesta valmistetun liuoksen pysyvyyttä (näytteet P1–P4). Seuraavissa koesarjoissa keskityttiin glukuronoksyalaani- ja tuhkapitoisuuden vaikutukseen hapatettujen näytteiden rakenteen pysyvyydessä. Näytteissä käytettiin polysakkaridina yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävää glukuronoksyalaania. Näytteiden polysakkaridipitoisuudet vaihtelivat välillä 0–0,25 % ja tuhkapitoisuudet välillä 0,43–1,4 % (näytteet GXHMM9–GXHMM20). Hemiselluloosan molekyyliden koon sekä alkuperän vaikutusta tarkasteltiin vertaamalla yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävää koivun glukuronoksyalaania koko fraktion sisältäviin koivun glukuronoksyalaaniin sekä vehnän oljen hemiselluloosaan. Näytteiden polysakkaridi- ja tuhkapitoisuudet sekä pH vastasivat näytteen GXHMM16 koostumusta.

Taulukko 2. Turbiscanilla analysoitujen näytteiden koostumukset. Näytteiden proteiinipitoisuus 3,7 %. Säilytyslämpötila 40 °C. GXHMM = glukuronoksyalaani (>5 kDa), GA = arabikumi, P = proteiini.

Näyte	Polysakkaridi (%)	Maitosuola (%)	Tuhka (%)	pH
GXHMM1 / GA1	0,25	0	0,43	4,6
GXHMM2 / GA2	0,25	0,43	0,6	4,6
GXHMM3 / GA3	0,25	0	0,43	6,7
GXHMM4 / GA4	0,25	0,43	0,6	6,7
GXHMM5 / GA5	0,5	0	0,43	4,6
GXHMM6 / GA6	0,5	0,43	0,6	4,6
GXHMM7 / GA7	0,5	0	0,43	6,7
GXHMM8 / GA8	0,5	0,43	0,6	6,7
P1	0	0	0,43	4,6
P2	0	0	0,43	6,7
P3	0	0	0,43	4,6
P4	0	0,2	0,51	4,6
P5	0	0,4	0,59	4,6
GXHMM9	0,125	0	0,43	4,6
GXHMM10	0,125	0,2	0,51	4,6
GXHMM11	0,125	0,4	0,59	4,6
GXHMM12	0,25	0	0,43	4,6
GXHMM13	0,25	0,2	0,51	4,6
GXHMM14	0,25	0,4	0,59	4,6
GXHMM15	0,25	0,33	0,56	4,6
GXHMM16	0,25	0,67	0,7	4,6
GXHMM17	0,25	1,1	0,88	4,6
GXHMM18	0,25	1,52	1,05	4,6
GXHMM19	0,25	1,96	1,23	4,6
GXHMM20	0,25	2,38	1,4	4,6

Proteiinien ja polysakkaridien vuorovaikutuksia tarkasteltiin lähemmin fluoresenssispektrometrillä (LS 55 Luminescence Spectrometer, PerkinElmer, USA). Käytetty menetelmä perustuu näytteen emissiospektrin muutokseen aallonpituuksilla 310–450 nm (Perez ym. 2009; Cheng ym. 2015). Näyte saadaan virittymään aallonpituudella 295 nm, joka vastaa proteiineissa olevan tryptofaanin viritysaallonpituutta. Ympäristössä tapahtuvat muutokset vaikuttavat voimakkaasti tryptofaanin viritystilän purkautumisesta syntyvän säteilyn intensiteettiin. Tämän vuoksi näytteen emissiospektrissä tapahtuvien muutosten voidaan ajatella johtuvan proteiinien ja polysakkaridien välillä olevista vuorovaikutuksista.

Fluoresenssispektrometrillä analysoitujen näytteiden valmistelussa ja mittausparametreissa mukailtiin Perezin ym. (2009) tutkimuksessaan käyttämiä arvoja. Näytteet valmistettiin kantaliuoksista 30 min ennen mittauksen aloittamista. Näytteiden proteiinipitoisuus oli 1 % (w/v) ja polysakkaridipitoisuus 0–1 % (w/v). Polysakkarideina käytettiin yli 5 kDa kokoisia

molekyylejä sisältävää glukuronoksyalaania (GXHMM) ja arabikumia (GA). Näytteiden pH oli noin 6,7 ja tuhkapitoisuus 0,7 %. Spektrometrin viritysrako (excitation slit) ja emis-siorako (emission slit) asetettiin 2,5 nm. Viritysaallonpituutena käytettiin 295 nm ja emis-siospektri tallennettiin 310–450 nm alueelta. Mittausnopeutena käytettiin 240 nm/min. Ky-vetteinä käytettiin UV kvartsikyvettejä, joiden valotien pituus oli 10 mm.

Zeta-potentiaalin ja sähkönjohtavuuden mittaamiseen käytettiin Zetasizer Nano ZS -laitetta (Malvern Instruments, Iso-Britannia) ja muovisia kapillaarikyvettejä. Zeta-potentiaali ja sähkönjohtavuus määritettiin proteiini, glukuronoksyalaani- ja arabikumiliuoksista. Liuosten vahvuus ennen laimennosta oli 5 %. Liuosten lisäksi zeta-potentiaali ja sähkönjohtavuus määritettiin myös näytteistä, joiden proteiinipitoisuus oli 3,7 %, polysakkaridipitoisuus 0,25 % ja tuhkapitoisuus 0,88 % ennen laimennosten tekoa. Näytteissä käytettiin polysakkarideina yli 5 kDa kokoista glukuronoksyalaania ja arabikumia. Mittausta varten kustakin näytteestä valmistettiin 10^{-3} -laimennokset käyttäen ionivaihdettua vettä. Mittaukset suoritettiin huoneenlämpötilassa ja näytteiden pH oli noin 7.

3.2.2 Jogurttimallikokeet

Materiaalit

Jogurttimallikokeissa käytettiin samaa Valion valmistamaa maitoproteiinijauhetta (Eila MPC60) ja maitosuolajauhetta kuin vuorovaikutustesteissä. Tutkittavina polysakkarideina käytettiin etanolisaostettua koivun glukuronoksyalaania (Fortum, Suomi), jonka molekyylien koko oli yli 5 kDa sekä arabikumia (Special Ingredients, Iso-Britannia). Jogurttien hapattamiseen käytettiin YO-MIX 401 -jogurttihapatetta (Danisco, Saksa). Jauheiden ennastamiseen käytettiin vesijohtovettä.

Näytteet

Jogurttimallikokeissa valmistettiin kolme erilaista jogurttinäytettä: vertailunäyte ilman lisättyä polysakkaridia, arabikumia sisältävä näyte ja koivun glukuronoksyalaania sisältävä näyte. Jogurttinäytteiden reseptit ovat esitettynä taulukossa 3. Jogurttinäytteiden proteiinipitoisuus oli 3,7 % ja tuhkapitoisuus 0,81 %.

Taulukko 3. Jogurtinäytteiden reseptit

	Vertailunäyte		Arabikumi		Ksylaani	
	g	%	g	%	g	%
	15000	100	15000	100	15000	100
Vesi	13953	93,02	13915,5	92,77	13915,5	92,77
Eila MPC60	901,5	6,01	901,5	6,01	901,5	6,01
Arabikumi	-	-	37,5	0,25	-	-
Ksylaani (>5 kDa)	-	-	-	-	37,5	0,25
Valio Milk Mineral Powder	142,5	0,95	142,5	0,95	142,5	0,95

Jogurtinäytteiden valmistaminen aloitettiin punnitsemalla jauhemaiset raaka-aineet astiaan ja sekoittamalla ne keskenään. Astiaan lisättiin vettä pienissä erissä ja syntyvää massaa sekoitettiin jatkuvasti tasaisen vettymisen varmistamiseksi. Maitoproteiinijauhe, maitosuolajauhe ja vesi punnittiin 10 g tarkkuudella (IND236, Mettler Toledo). Arabikumi ja ksylaani punnittiin 0,5 g tarkkuudella (XS6002S, Mettler Toledo) Valmiit massat siirrettiin kylmiöön ennastumaan yön ajaksi.

Massojen homogenointi ja pastörinti tehtiin Valion T&K osaston prosessilaboratorion lämpökäsittelylaitteistolla (Tetra Pak, Englanti). Lämpökäsittely aloitettiin esilämmittämällä massa 60 °C:n lämpötilaan. Massan homogenointi suoritettiin kahdessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa homogenointipaine oli 150 bar ja toisessa vaiheessa homogenointipaine oli 35 bar. Kaksivaiheisessa homogenoinnissa ensimmäinen vaihe pienentää maidossa olevat rasvapalloset ja toinen vaihe estää rasvapallosia liittymästä takaisin yhteen (Chandan ja O'Rell 2013). Homogenoinnin jälkeen massa lämmitettiin 90 °C:n lämpötilaan pastörintia varten. Pastörintiaika prosessissa oli 5 minuuttia. Pastörintin jälkeen massa jäähdytettiin noin 43–50 °C:seen ja massaa punnittiin desinfioituun teräksiseen hapatusastiaan 10 000 g. Valmiin massan liukoisen kuiva-aineen pitoisuus oli 6,1 °Bx (PAL-1, Atago, Japani). Prosessoidut massat siirrettiin lämpökaappiin (43 °C) odottamaan hapatteen lisäystä. Lämpökäsittelylaitteisto huuhdeltiin vedellä näytteiden prosessointien välillä.

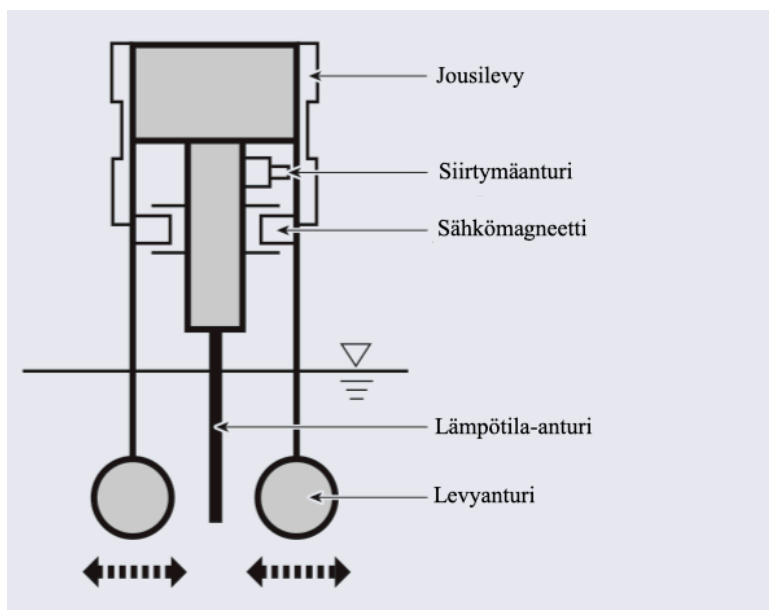
Hapatelisäys tehtiin jokaiseen massaan samanaikaisesti. Hapatusastiasta otettiin noin 100 ml pastöroitua massaa desinfioituun dekantterilasiin, johon punnittiin analyysivaa'alla 2 g hapatetta (XP5003S, Mettler Toledo). Hapatteen ja massan seos sekoitettiin hapatusastiaan ja hapatusastiat siirrettiin takaisin lämpökaappiin. Näytteiden pH:n muutosta mitattiin noin tunnin välein SevenEasy -pH mittarilla (Mettler Toledo).

Hapatus kesti noin 6 h, jonka jälkeen vertailunäytteen pH oli 4,60, arabikumia sisältävän näytteen pH oli 4,61 ja ksylaania sisältävän näytteen pH oli 4,61. Hapatusastiat siirrettiin jäävesihauteeseen jäähtymään. Muodostunut geelirakenne ja sen päälle kertynyt vesifaasi sekoitettiin käsin tasaiseksi teräksisellä sekoittajalla. Jogurttinäytteet jäähdytettiin 20 °C lämpötilaan. Jäähdytyksen jälkeen jogurttinäytteet annosteltiin 1,2 dl polypropeenipikareihin ja pikarit suljettiin foliokannella kuumasaumaajan avulla. Pakkauksen jälkeen pikarit siirrettiin kylmiöön odottamaan jogurttinäytteiden analysointia.

Menetelmät

Jogurttinäytteiden viskositeettia mitattiin yhden ja kolmen viikon kuluttua valmistuksesta. Jokaisesta jogurttinäytteestä tehtiin kolme rinnakkaista mittausta. Jogurttinäytteet olivat jatkautuneet kylmäsäilytyksen aikana kahdeksi faasiksi, jonka vuoksi jogurttinäytteiden rakenne sekoitettiin tasaiseksi juuri ennen mittauksen suorittamista. Jogurttinäytteitä ei tarvinnut siirtää erilliseen näyteastiaan, vaan mittaus voitiin tehdä suoraan pikarista.

Viskositeettien mittaamiseen käytettiin A&D Instrumentsin valmistamaa SV-10 viskometriä ja RS Visco -ohjelmistoa (v. 1.11). Kyseisen viskometri koostuu kahdesta sähkömagneettismin avulla värähtelevästä levyanturista (sensor plate), levyanturien liikettä havainnoivasta siirtymäanturista (displacement sensor) sekä lämpötila-anturista (kuva 5).



Kuva 5. Viskometrin rakenne (A&D Instruments).

Näytteeseen asetettavat levyanturit saadaan värähtelemään 30 Hz taajuudella sähkömagneettisen voiman avulla. Näytteen viskositeetti määritetään nesteen aiheuttaman vastuksen ja levyanturien tasaisen värähtelyliikkeen ylläpitämiseksi vaaditun sähkövirran avulla.

Jogurttinäytteiden aistinvaraisia ominaisuuksia arvioitiin näytteiden valmistukseen osallistuneiden henkilöiden kesken. Jogurttinäytteet arvioitiin yhden ja kolmen viikon kuluttua valmistuksesta. Raadin koko oli ensimmäisessä arvioinnissa 4 henkilöä ja toisessa arvioinnissa 3 henkilöä. Näytteistä arvioitiin värin tummuutta, jogurttimaisen aromin voimakkuutta, sivumaun voimakkuutta, rakenteen paksuutta ja venyvyyttä sekä kokonaismiellyttävyyttä asteikolla 0–5. Lisäksi näytteistä annettiin avoimia kommentteja.

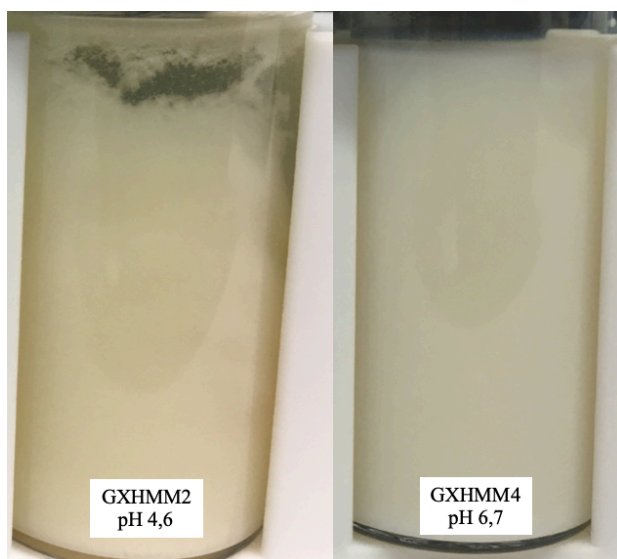
Jogurttinäytteissä tapahtuvaa heran erottumista seurattiin Turbiscan Lab -laitteen avulla. Jokaisesta näytteestä tehtiin kolme rinnakkaista mittausta. Näytteet valmisteltiin sekoittamalla pikarissa oleva jogurtti tasaiseksi. Sekoittamisen jälkeen jogurttia annosteltiin Turbiscanin kyvetiin noin 20 ml. Jogurttinäytteitä säilytettiin kylmiössä mittausten välillä. Heran erottumista seurattiin 23 päivän ajan.

3.3 Tulokset

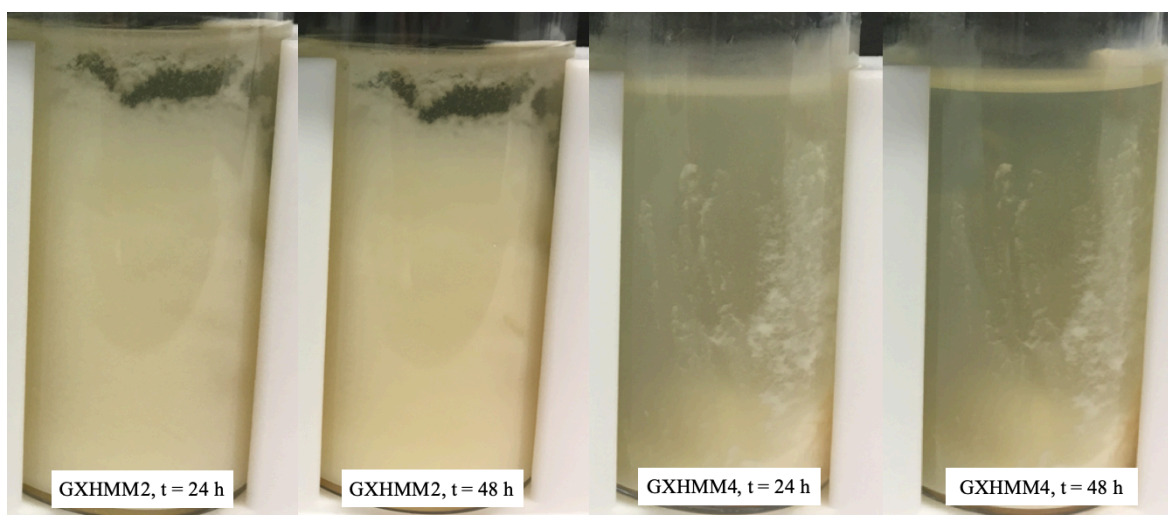
3.3.1 Vuorovaikutustestit

Turbiscan-analyysit

Näytteet GXHMM1–GXHMM8 olivat valmistushetkellä vaaleita läpinäkymättömiä liuoksia. Eroja näytteiden välille alkoi muodostua 2 tunnin säilytyksen jälkeen. Näytteet, joihin oli lisätty glukonodeltalaktonia, alkoivat erottautumaan kahdeksi faasiksi geeliytymisen seurauksena (GXHMM2). Näytteet, joiden pH oli noin 6,7 olivat vielä yhtenä faasina (GXHMM4) (kuva 6).



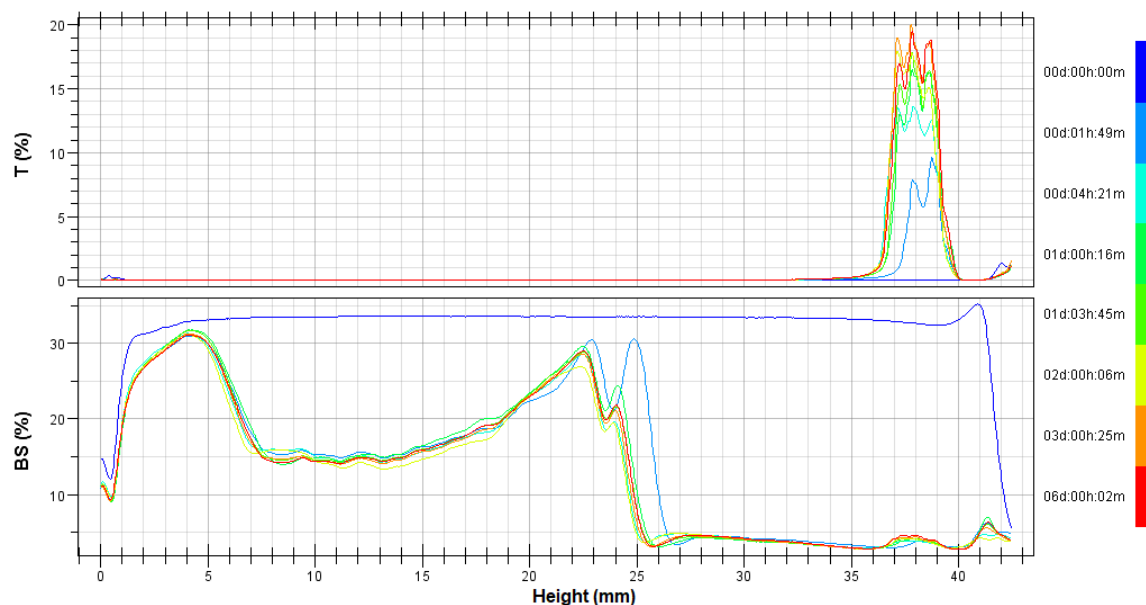
Kuva 6. Näytteet GXHMM2 ja GXHMM4. Proteiinipitoisuus 3,7 %, polysakkaridipitoisuus 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, $t = 2$ h, $T = 40$ °C. GXHMM = glukuronoksylaani (>5 kDa)



Kuva 7. Näyte GXHMM2 (pH 4,6) ja GXHMM4 (pH 6,7) 24h ja 48h säilytyksen jälkeen, proteiinipitoisuus 3,7 %, polysakkaridipitoisuus 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, $T = 40$ °C. GXHMM = glukuronoksylaani (>5 kDa).

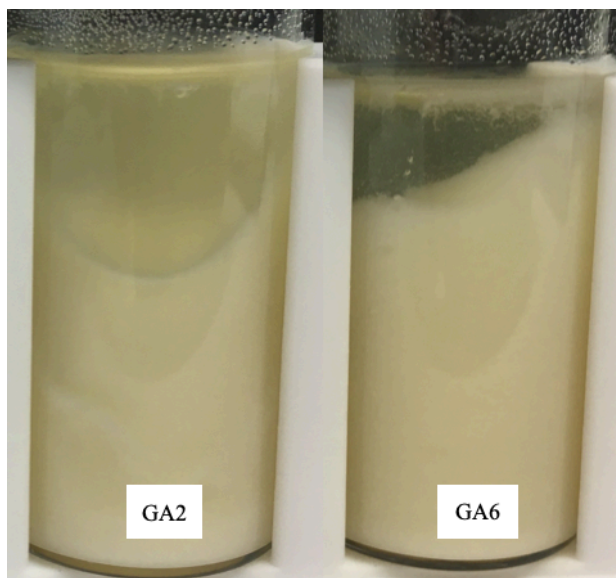
Vuorokauden säilytyksen jälkeen näytteiden rakenteiden pysyvyyden välille alkoi muodostua eroja. Kahden vuorokauden säilytyksen jälkeen kaikkien muiden näytteiden (GXHMM1–GXHMM8) paitsi näytteen GXHMM2 rakenne (kuva 7) oli hajonnut. Näyteastian oli muodostunut saostuma, joka oli asettunut näyteastian pohjalle tai kellui nesteen pinnalla. Näytteissä, joiden pH oli 6,7, tuhkapitoisuudella ei näyttänyt olevan vaikutusta näytteen rakenteen pysyvyyteen. Hapatetuissa näytteissä tuhkapitoisuuden nosto paransi näytteiden rakenteen yhtenäisyyttä. Näytteet muodostivat pysyvemmän rakenteen tuhkapitoisuuden ollessa 0,6 % kuin tuhkapitoisuudella 0,43 %. Näytteen GXHMM2 Turbiscan-analyysi on esitettyä kuvassa 8. Ylemmän kuvaajan pystyakseli ilmoittaa näytteen läpäisseen valon intensiteetin prosentteina (T, transmission). Alemman kuvaajan pystyakseli ilmoittaa näytteestä takaisinsironneen valon intensiteetin prosentteina (BS, backscattering).

Kuvaajien vaaka-akseli kuvaa näyteastian korkeutta millimetreissä. Näytteiden GXHMM1–GXHMM8 Turbiscan-analyysit kuuden vuorokauden ajalta ovat esitettynä liitteessä 1. Turbiscan-analyysien perusteella näyte GXHMM2 muodosti pysyvimmän rakenteen, joten seuraava koesarja suunniteltiin tämän näytteen koostumuksen pohjalta.



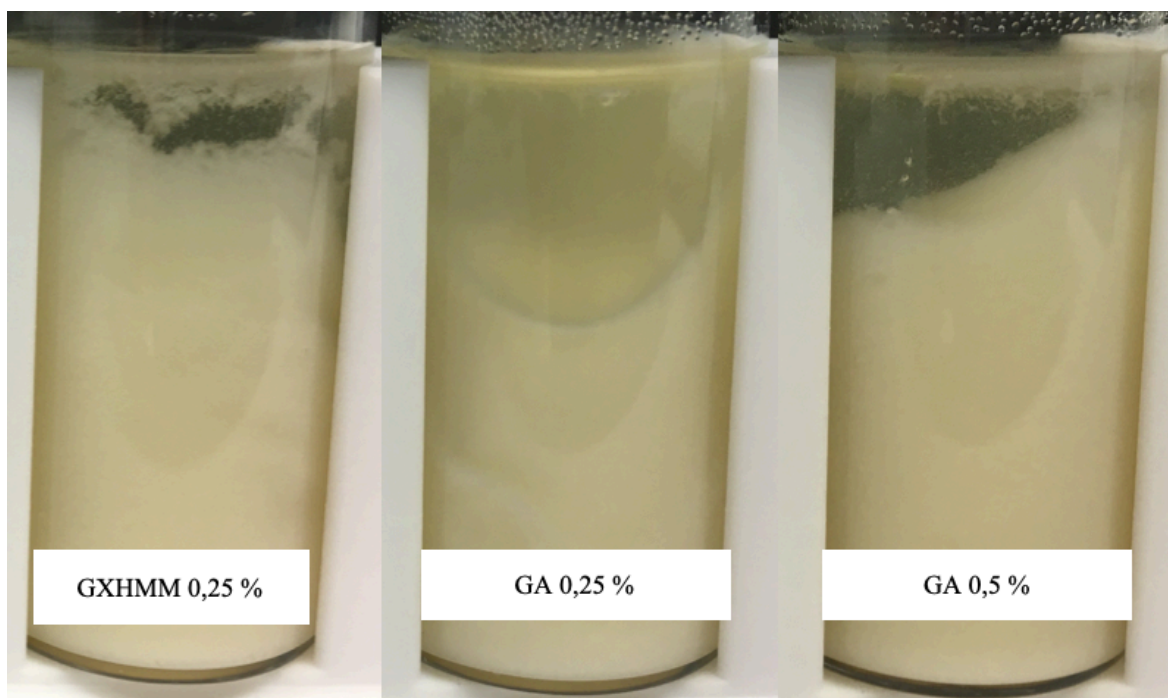
Kuva 8. Näytteen GXHMM2 Turbiscan-analyysit. T = näytteen läpäisseen valon intensiteetti, BS = näytteestä takaisinsironneen valon intensiteetti.

Arabikumia sisältävät näytteet eivät eronneet ulkonäöltään glukuronoksyalaania sisältävistä näytteistä. Näytteet käyttäytyivät kahden tunnin säilytyksen jälkeen kuten glukuronoksyalaania sisältävät näytteet. Näytteet ilman glukonodeltalaktonin lisäystä olivat kahden tunnin jälkeen yhtenä faasina, kun taas hapatetuissa näytteissä alkoi tapahtua heran erottumista näytteen pinnalle. Vuorokauden säilytyksen jälkeen näytteet GA2 ja GA6 olivat säilyttäneet rakenteensa (kuva 9). Muiden arabikumia sisältävien näytteiden rakenne oli hajonnut täysin. Myös arabikumia sisältävissä näytteissä oli havaittavissa tuhkapitoisuuden vaikutus näytteen rakenteen pysyvyyteen hapatetuissa näytteissä. Tuhkapitoisuuden nosto lisäsi näytteen rakenteen pysyvyyttä. Näytteissä, joiden pH oli 6,7, tuhkapitoisuudella ei ollut vaikutusta näytteen rakenteen pysyvyyteen. Näytteet GA2 ja GA6 pysyivät lähes muuttumattomina koko kuuden vuorokauden säilytysajan ajan. Arabikumia sisältävien näytteiden Turbiscan-analyysit ovat esitettynä liitteessä 2.



Kuva 9. Näytteet GA2 (polysakkaridipitoisuus 0,25 %) ja GA6 (polysakkaridipitoisuus 0,5 %) 24 h säilytyksen jälkeen. Proteiinipitoisuus 3,7 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 4,6, T = 40 °C. GA = arabikumi

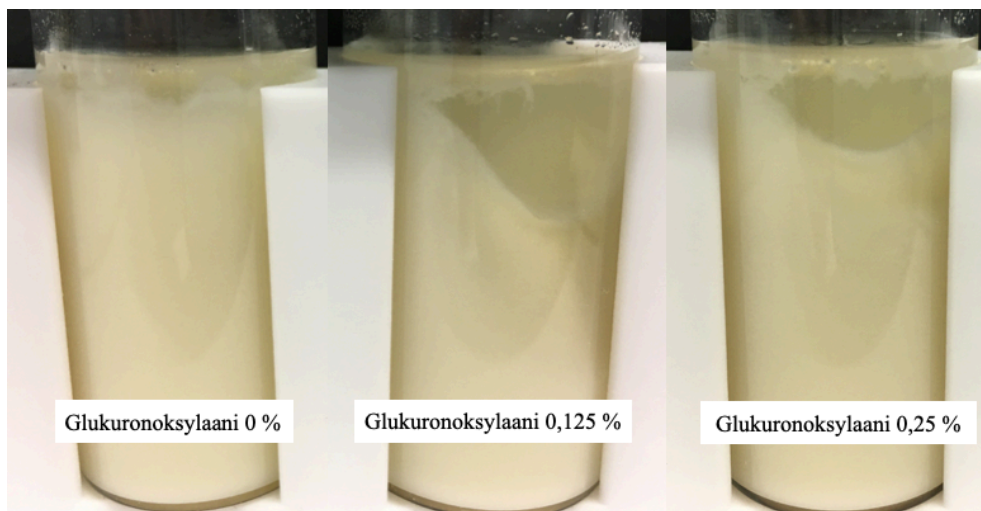
Glukuronoksyylaania (GXHMM) ja arabikumia sisältäviä näytteitä vertailtaessa glukuronoksylaanin voidaan havaita muodostavan pysyvemmän rakenteen kuin arabikumi polysakkaridipitoisuuden ollessa 0,25 % ja tuhkapitoisuuden 0,6 % (kuva 10).



Kuva 10. Näytteet 24 h säilytyksen jälkeen. Proteiinipitoisuus 3,7 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, T = 40 °C, pH 4,6. GXHMM = glukuronoksylaani (>5 kDa), GA = arabikumi.

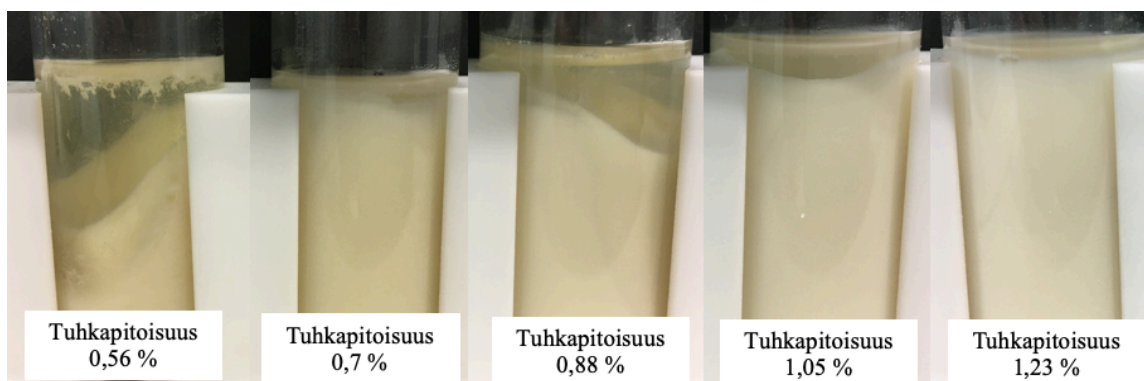
Seuraavassa koesarjassa tutkittiin tuhkapitoisuuden vaikutusta näytteen rakenteen pysyvyyteen (näytteet P3–P5 ja GXHMM9–GXHMM14). Lisäksi koesarjassa testattiin, kuinka polysakkaridipitoisuuden pienentäminen vaikuttaa näytteen rakenteen pysyvyyteen. Näytteet

ilman lisättyä polysakkaridia eivät säilyttäneet rakennettaan 40 °C:een säilytyslämpötilassa riippumatta pH:sta, kun näytteiden tuhkapitoisuudet olivat 0,43–0,51 %. Myöskään glukuronoksylaania (>5 kDa) sisältävät näytteet eivät muodostaneet pysyvää rakennetta tuhkapitoisuuden ollessa 0,43–0,51 %. Tuhkapitoisuuden nosto 0,59 %:iin lisäsi näytteiden rakenteen pysyvyyttä. Myös glukuronoksylaanipitoisuuden (>5 kDa) nosto 0,125 %:sta 0,25%:iin vähensi hapatetun näytteen pinnalle erottuvan heran määrää (kuva 11). Näytteiden P3–P5 ja GXHMM9–GXHMM14 Turbiscan-analyysit ovat esitettynä liitteessä 3.



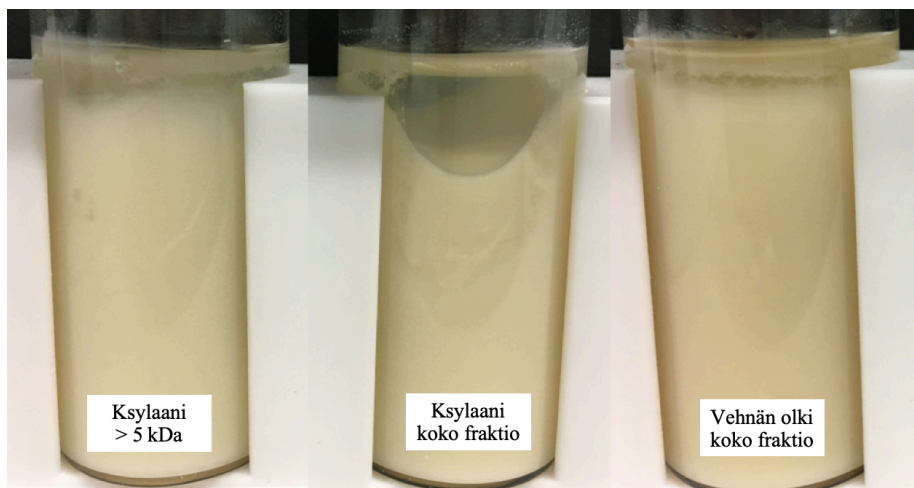
Kuva 11. Glukuronoksylaanin (>5 kDa) vaikutus rakenteen pysyvyyteen. Proteiinipitoisuus 3,7 %, tuhkapitoisuus 0,59 %, pH 4,6, t = 24 h, T = 40 °C.

Tuhkapitoisuuden vaikutusta tutkittiin lisää laajentamalla koesarjaa (näytteet GXHMM15–GXHMM20). Valmistetut näytteet sisälsivät glukuronoksylaania 0,25 % ja näytteiden tuhkapitoisuudet vaihtelivat 0,56–1,4 % välillä. 0,56 % tuhkapitoisuus ei ollut riittävä näytteen rakenteen pysyvyyden kannalta. Tuhkapitoisuuden ollessa 0,7 % tai suurempi, näytteiden rakenteiden pysyvyydessä ei ollut merkittäviä eroja (kuva 12). Näytteiden GXHMM15–GXHMM20 Turbiscan-analyysit ovat esitettynä liitteessä 4.



Kuva 12. Tuhkapitoisuuden vaikutus rakenteen pysyvyyteen. Proteiinipitoisuus 3,7 %, glukuronoksylaanipitoisuus (>5 kDa) 0,25 %, pH 4,6, t = 24 h, T = 40 °C.

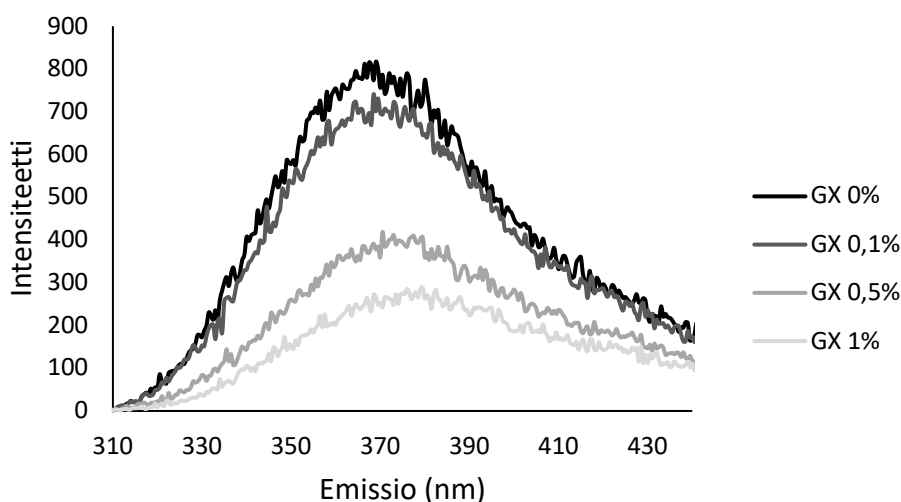
Hemiselluloosan koolla ja alkuperällä oli vaikutusta niitä sisältävän näytteen ulkonäköön ja rakenteen pysyvyyteen (kuva 13). Vehnän oljen hemiselluloosaa sisältävä näyte oli väriltään ruskeampi kuin koivun glukuronoksylaania sisältävät näytteet. Yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävällä koivun glukuronoksyalaanilla oli suurempi vaikutus näytteen rakenteen pysyvyyteen kuin koko fraktion sisältävällä koivun glukuronoksyalaanilla. Vehnän oljen hemiselluloosan ja yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävän koivun glukuronoksyalaanin välillä ei ollut havaittavaa eroa näytteen rakenteen pysyvyydessä.



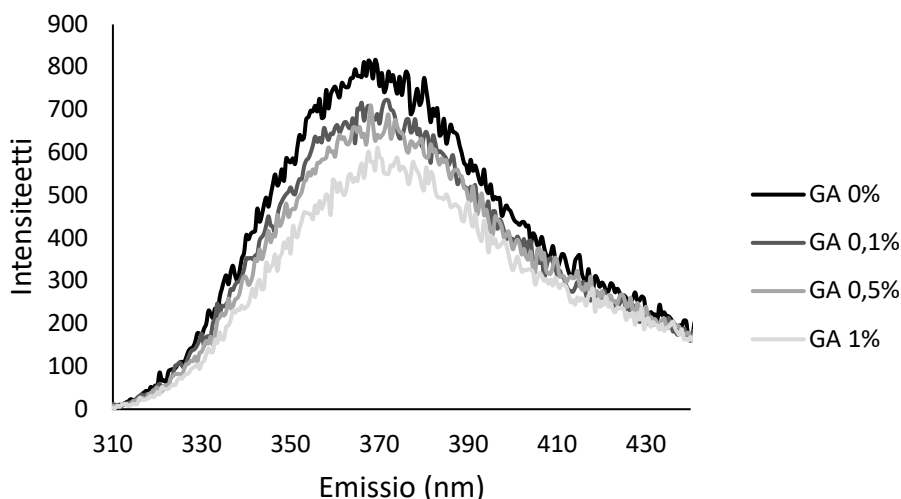
Kuva 13. Hemiselluloosan vaikutus rakenteen pysyvyyteen. Proteiinipitoisuus 3,7 %, hemiselluloosapitoisuus 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,7 %, pH 4,6, t = 24 h, T = 40 °C.

Fluoresenssispektrometria

Proteiini-polysakkaridi vuorovaikutuksia tutkittiin tarkemmin näytteistä, jotka sisälsivät 1 % proteiinia ja 0–1 % koivun glukuronoksylaania (>5 kDa) tai arabikumia. Näytteiden tuhkapitoisuus oli 0,7 %. Kuvassa 14 on esitettyä yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävän glukuronoksyalaanin (GX) vaikutus maitoproteiinia sisältävän näytteen emissiospektriin aallonpituuksilla 310–450 nm ja kuvassa on 15 esitettyä arabikumin (GA) vaikutus maitoproteiinia sisältävän näytteen emissiospektriin aallonpituuksilla 310–450 nm.



Kuva 14. Koivun glukuronoksyalaanipitoisuuden (>5 kDa) vaikutus maitoproteiinia sisältävän näytteen emissiospektriin. Proteiinipitoisuus 1 %, tuhkapitoisuus 0,7 %, pH 6,7. GX = glukuronoksyalaani.

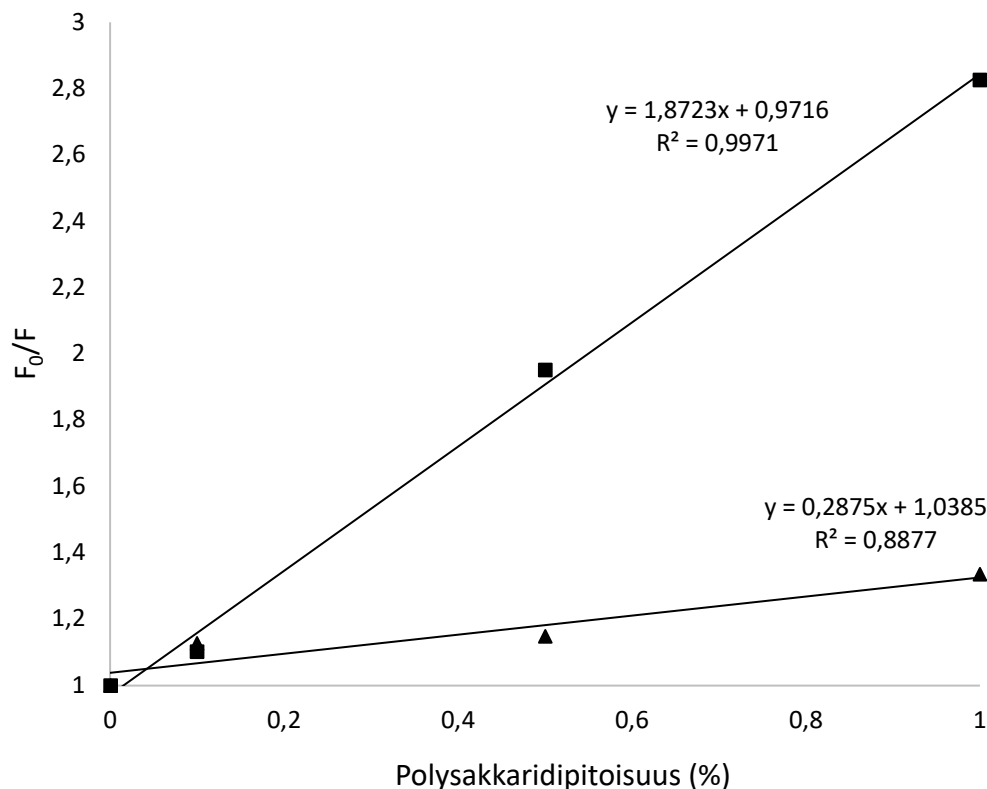


Kuva 15. Arabikumipitoisuuden vaikutus maitoproteiinia sisältävän näytteen emissiospektriin. Proteiinipitoisuus 1 %, tuhkapitoisuus 0,7 %, pH 6,7. GA = arabikumi.

Kuvista 14 ja 15 voidaan havaita koivun glukuronoksyalaanilla olevan voimakkaampi vaikutus näytteen emittoiman säteilyn intensiteettiin kuin arabikumilla. Voimakkaamman himmentämisvaikutuksen perusteella glukuronoksyalaanilla on mahdollisesti enemmän vuorovaikutuksia maitoproteiinin kanssa. Polysakkaridien himmentämisvaikutuksia voidaan vertailla tarkemmin Stern-Volmerin yhtälön (1) avulla, jossa F_0 on 0 % polysakkaridia sisältävän näytteen korkeimman intensiteetin arvo, F on intensiteetin korkein arvo kullakin polysakkaridipitoisuudella ja PS on polysakkaridipitoisuus prosentteina. Kulmakerroin K_{SV} kuvaa himmentämisvaikutuksen voimakkuutta. Suurempi K_{SV} -arvo kertoo voimakkaammista proteiini-polysakkaridi vuorovaikutuksista (Perez ym. 2009).

$$F_0 / F = 1 + K_{SV}[PS] \quad (1)$$

Stern-Volmerin yhtälön avulla voidaan laskea jokaiselle polysakkaridipitoisuudelle suhde intensiteettihiukkien arvoista. Sovittamalla suora laskettuihin pisteisiin saadaan lukuarvot himmentämisvaikutuksen voimakkuudelle (kuva 16).



Kuva 16. Stern-Volmerin yhtälöön sovitetut suorat. \blacksquare glukuronoksyylaani (>5 kDa), \blacktriangle arabikumi. Proteiinipitoisuus 1 %, pH 6,7, tuhkapitoisuus 0,7 %,.

Kuvasta 16 nähdään proteiini-glukuronoksyylaani järjestelmän K_{SV} -arvon ($1,9 \text{ } \%^{-1}$, $R^2 = 0,997$) olevan suurempi kuin proteiini-arabikumi järjestelmän K_{SV} -arvon ($0,3 \text{ } \%^{-1}$, $R^2 = 0,888$), joka kertoo glukuronoksylaanin vaikuttavan arabikumia voimakkaammin näytteen viritystilan purkautumisesta emittoituvan säteilyn intensiteettiin. Tämä saattaa olla seurausta glukuronoksylaanin voimakkaammista vuorovaikutuksista maitoproteiinin kanssa verrattuna arabikumiin.

Zeta-potentiaali ja sähkönjohtavuus

Zeta-potentiaali ja sähkönjohtavuus määritettiin proteiini-, glukuronoksyylaani- ja arabikumiliuksille, joiden pitoisuudet olivat 5 % sekä näytteille, joiden proteiinipitoisuus oli 3,7 %, polysakkaridipitoisuus 0,25 % ja tuhkapitoisuus 0,88 % ennen laimennoksien tekoa. Näytteissä käytettiin polysakkarideina yli 5 kDa kokoista glukuronoksyylaania ja arabikumia.

Taulukossa 4 on esitettyä liuoksille määritetyt zeta-potentiaalit. Zeta-potentiaalit ja sähköjohtavuudet ovat esitettyä keskiarvona viiden mittauksen tuloksista.

Taulukko 4. Liuoksille määritetyt zeta-potentiaalit ja zeta-potentiaalien keskihajonnat. GX = glukuronoksyalaani (>5 kDa), GA = arabikumi. Tuhkapitoisuus 0,88%, pH 6,7.

	Zeta-potentiaali (mV)	Proteiinipitoisuus (%)	Polysakkaridipitoisuus (%)
Proteiini	-38,1 ± 1,2	5	0
Proteiini + GX	-37,3 ± 1,7	3,7	0,25
Proteiini + GA	-46,2 ± 0,6	3,7	0,25
GX	-34,0 ± 3,8	0	5
GA	-47,6 ± 2,4	0	5

Taulukosta 4 nähdään arabikumin zeta-potentiaalın olevan itseisarvoltaan suurin (-47,6 mV). Proteiiniliuoksen zeta-potentiaaliksi mitattiin -38,1 mV ja glukuronoksyalaaniliuoksen zeta-potentiaaliksi -34,0 mV. Proteiinia ja glukuronoksyalaania sisältävän näytteen zeta-potentiaali (-37,3 mV) oli itseisarvoltaan pienempi kuin proteiinia ja arabikumia sisältävälle näytteelle mitattu zeta-potentiaali (-46,2 mV).

Proteiniliuoksen sähköjohtavuudeksi mitattiin 9,5 µS/cm (taulukko 5). Polysakkaridiliuosten sähköjohtavuudet olivat lähes samat. Glukuronoksyalaaniliuoksen sähköjohtavuudeksi mitattiin 3,3 µS/cm ja arabikumiliuoksen sähköjohtavuudeksi 3,2 µS/cm. Korkein sähköjohtavuus mitattiin proteiinia ja arabikumia sisältävälle liuokselle (26,0 µS/cm). Proteiinia ja glukuronoksyalaania sisältävän liuoksen sähköjohtavuudeksi mitattiin 22,7 µS/cm.

Taulukko 5. Liuoksille määritetyt sähköjohtavuudet ja sähköjohtavuuksien keskihajonnat. GX = glukuronoksyalaani (>5 kDa), GA = arabikumi. Tuhkapitoisuus 0,88 %, pH 6,7.

	Sähköjohtavuus (µS/cm)	Proteiinipitoisuus (%)	Polysakkaridipitoisuus (%)
Proteiini	9,5 ± 0,9	5	0
Proteiini + GX	22,7 ± 0,4	3,7	0,25
Proteiini + GA	26,0 ± 0,1	3,7	0,25
GX	3,3 ± 0,7	0	5
GA	3,2 ± 0,6	0	5

3.3.2 Jogurttimallikokeet

Jogurtinäytteiden pH

Jogurtinäytteiden pH:t pakkaushetkellä sekä yhden ja kolmen viikon säilytyksen jälkeen ovat esitettynä taulukossa 6. Jokaisella ajanhetkellä tehtiin kolme rinnakkaista mittausta ja lopullinen pH:n arvo on näiden mittausten keskiarvo.

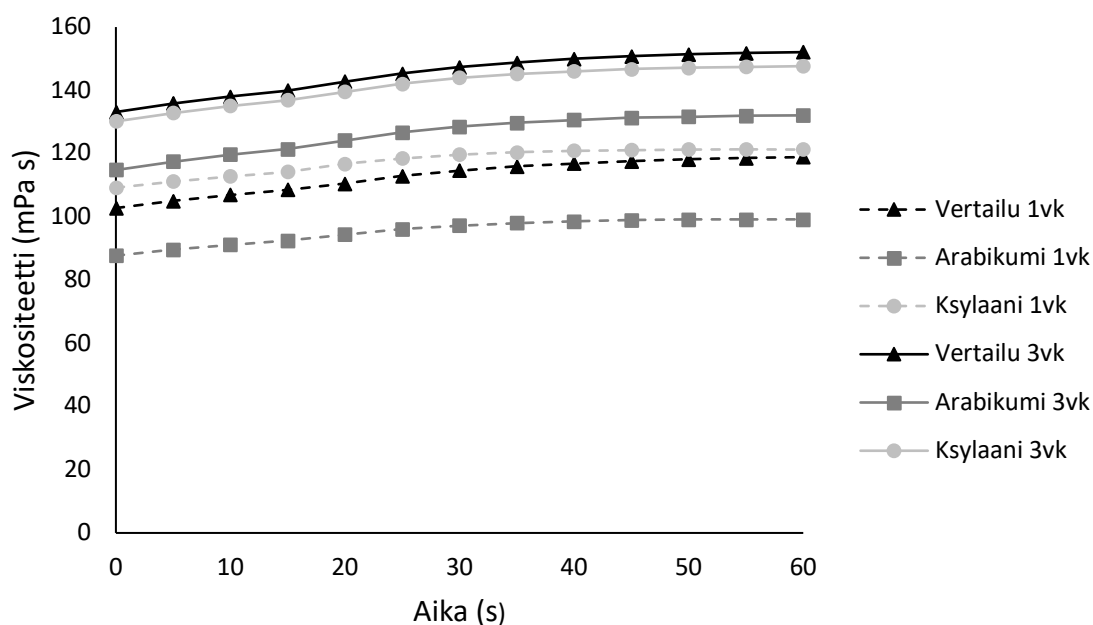
Taulukko 6. Jogurtinäytteiden pH:n muutos.

Aika (päivää)	Vertailunäyte	Arabikumi	Ksylaani
0	4,60	4,61	4,61
7	4,43	4,43	4,45
18	4,44	4,45	4,46

Taulukosta 6 nähdään, että lisätyillä polysakkarideilla ei ollut vaikutusta jogurtinäytteiden pH:n arvoihin. Jogurtinäytteissä tapahtui happanemista kylmäsäilytyksen aikana, joka on seurausta hapatukseen käytetyn maitohappobakteerin toiminnasta.

Viskositeetti

Kuvassa 17 on esitettynä jogurtinäytteiden viskositeetit yhden ja kolmen viikon kuluttua valmistuksesta. Näytteiden lämpötila mittaushetkellä oli noin 7–8 °C. Jokaiselle jogurtinäytteelle tehtiin kolme rinnakkaista mittausta.

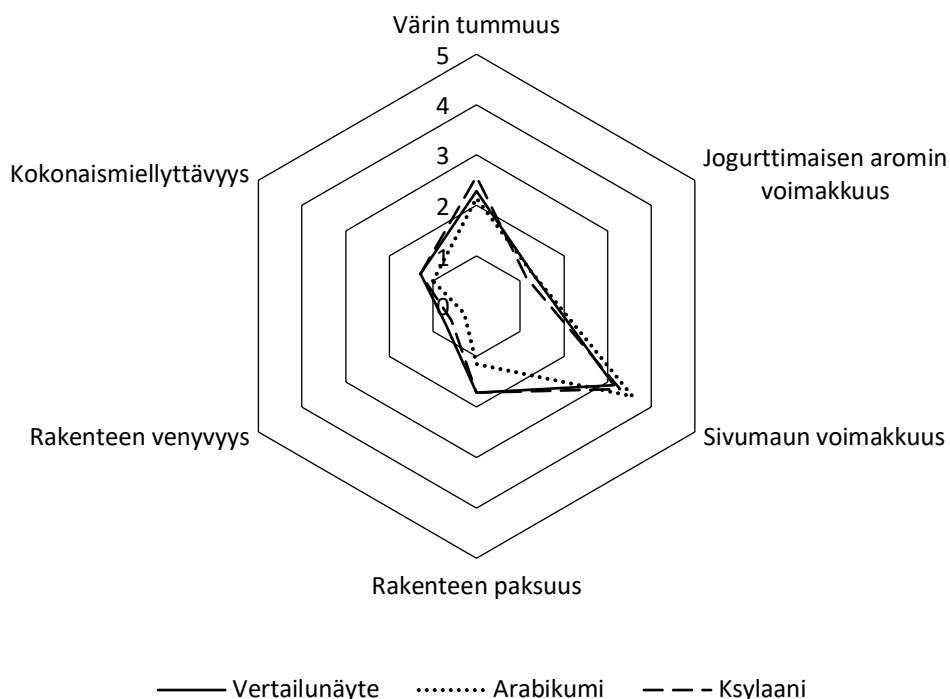


Kuva 17. Jogurtinäytteiden viskositeetit yhden ja kolmen viikon kuluttua valmistuksesta. T = 7–8 °C.

Kuvasta 17 nähdään jokaisen näytteen viskositeetin kasvaneen säilytyksen aikana. Arabikumia sisältävän näytteen viskositeetti oli alhaisin sekä yhden viikon säilytyksen (95,5 mPa s), että kolmen viikon säilytyksen (126,1 mPa s) jälkeen. Glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältävän näytteen viskositeetti oli yhden viikon säilytyksen jälkeen hieman korkeampi (117,6 mPa s) kuin vertailunäytteen viskositeetti (112,9 mPa s). Kolmen viikon säilytyksen jälkeen glukuronoksyalaania sisältävän näytteen viskositeetti oli 141,6 mPa s, arabikumia sisältävän näytteen viskositeetti oli 126,1 mPa s ja vertailunäytteen viskositeetti oli 145,2 mPa s. Rinnakkaisten näytteiden välillä oli jonkin verran eroa. Keskihajonnat mittausten välillä yhden viikon säilytyksen jälkeen olivat vertailunäytteellä 2,6 mPa s, glukuronoksyalaania sisältävällä näytteellä 6,3 mPa s ja arabikumia sisältävällä näytteellä 15,3 mPa s. Keskihajonnat mittausten välillä kolmen viikon säilytyksen jälkeen olivat vertailunäytteellä 35,7 mPa s, glukuronoksyalaania sisältävällä näytteellä 28,8 mPa s ja arabikumia sisältävällä näytteellä 4,0 mPa s.

Aistinvarainen arviointi

Jogurttinäytteiden aistinvaraisen arviointien tulokset ovat esitettynä kuvassa 18. Yhden ja kolmen viikon kuluttua jogurttinäytteiden valmistuksesta pidettyjen aistinvaraisten arviointien tulokset ovat koottu samaan kuvaan käytettävissä olevan datan vähyyden vuoksi (n = 7).



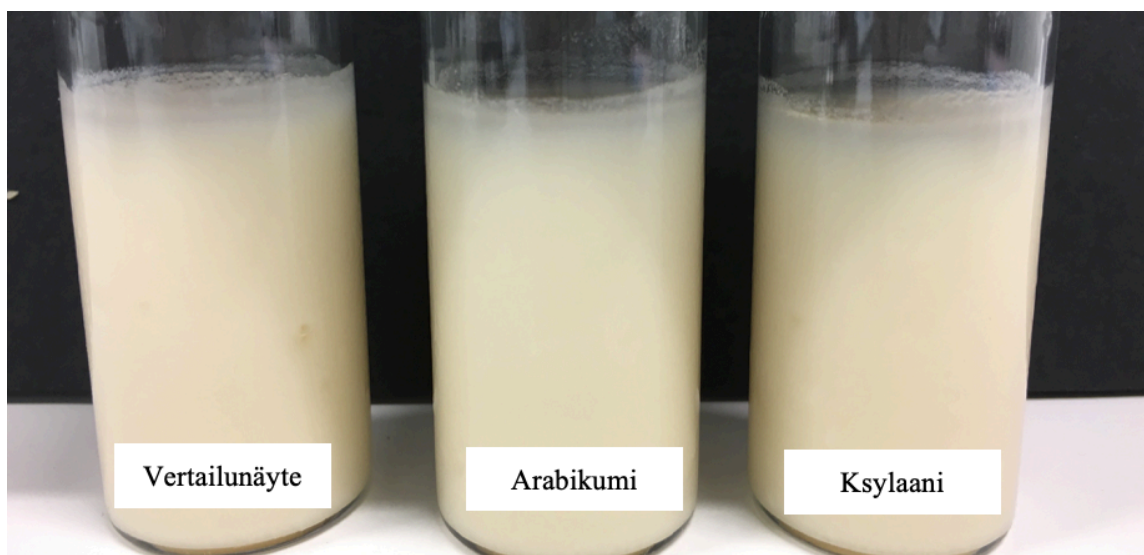
Kuva 18. Jogurttinäytteiden aistinvaraisten arviointien tulokset (n = 7).

Jogurttinäytteiden välillä ei havaittu eroja sivumaun voimakkuudessa tai jogurttimaisen aromin voimakkuudessa. Lisätyt polysakkaridit eivät muuttaneet näytteen väriä verrattuna vertailunäytteeseen. Vertailunäytteen ja glukuronoksylaania ($> 5\text{kDa}$) sisältävän näytteen rakenteiden paksuus ja venyvyys arvioitiin hieman arabikumia sisältävää näytettä suuremmaksi. Myös näiden kahden näytteen kokonaismiellyttävyyttä arvioitiin hieman arabikumia sisältävää näytettä paremmaksi.

Raadilta pyydettiin lisäksi sanallisia kommentteja näytteistä. Kaikkien näytteiden kohdalla toistuvia kommentteja olivat rakenteen rakeisuus ja suolainen maku. Lisäksi raati havaitsi kaikkien näytteiden pinnalle erottuneen heran ja näytteissä olleen voimakkaan sivumaun.

Heran erottuminen

Jogurttinäytteissä tapahtuvaa heran erottumista analysoitiin Turbiscanin avulla. Jogurttinäytteiden Turbiscan-analyysien tulokset ovat esitettynä liitteessä 5. Näytteiden välillä ei havaittu eroja heran erottumisessa. Kuvassa 19 on esitettynä jogurttinäytteet 1 vuorokauden säilytyksen jälkeen. Kuvasta voidaan havaita jokaisen näytteen pinnalle erottuneen herakerroksen olevan lähes yhtä suuri.



Kuva 19. Jogurttinäytteet 24 h säilytyksen jälkeen, $T = 5\text{ °C}$.

3.4 Pohdinta

3.4.1 Vuorovaikutustestit

Koostumuksen vaikutus rakenteen pysyvyyteen

Vuorovaikutustesteissä näytteen koostumuksella ja pH:lla havaittiin olevan vaikutusta näytteen rakenteen pysyvyyteen. pH:n laskun seurauksena muodostuneen proteiiniverkoston kyvyssä sitoa vettä oli eroja näytteiden välillä. Proteiiniverkoston vedensidontakykyyn vaikuttavat näytteen liukoisen kuiva-aineen pitoisuus, fermentointilämpötila sekä näytteeseen lisätyt stabilointiaineet (Everett ja McLeod 2005; Lee ja Lucey 2010). Liukoisen kuiva-ainepitoisuuden nosto esimerkiksi proteiinipitoisuutta kasvattamalla parantaa proteiiniverkoston vedensidontakykyä. Proteiiniverkoston heikko vedensidontakyky on seurausta proteiiniverkoston epävakaudesta johtuvista muutoksista molekyylien välillä. Proteiinien välille muodostuneet sidokset avautuvat, jonka vuoksi verkoston rakenne ja samalla vedensidontakyky heikkenee.

Tässä työssä näytteiden proteiinipitoisuus oli säädetty 3,7 %, joka vastaa keskimääräistä jogurtin valmistukseen käytettävän maidon proteiinipitoisuutta. Näytteiden kuiva-ainepitoisuutta ja ionivahvuutta säädettiin tuhkapitoisuuden kautta maitosuolajauheen avulla. Maitosuolajauhe koostuu maidon luontaisista mineraaleista sekä laktoosista. Tutkittaessa tuhkapitoisuuden vaikutusta näytteiden rakenteen pysyvyyteen, havaittiin korkeamman tuhkapitoisuuden ja samalla myös kuiva-ainepitoisuuden lisäävän hapatettujen näytteiden rakenteen pysyvyyttä. Näytteen tuhkapitoisuuden ollessa pienempi kuin 0,56 % proteiinit eivät muodostaneet geelirakennetta. Tuhkapitoisuuden ollessa 0,7 % tai korkeampi näytteiden kuiva-ainepitoisuus oli riittävän suuri proteiiniverkoston syntymiselle. Yleisesti maidon tuhkapitoisuus on noin 0,7 % riippuen maidon alkuperästä (Amenu ja Deeth 2005).

Stabilointiaineita käytetään lisäämään jogurtin viskositeettia ja vähentämään heran erottumista (Everett ja McLeod 2005). Tässä työssä keskityttiin vain yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävän koivun glukuronoksyalaanin ja arabikumin vaikutuksiin näytteiden rakenteen pysyvyyteen. Lisäksi vain yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävää glukuronoksyalaania verrattiin koko fraktion sisältävään glukuronoksyalaaniin sekä vehnän oljen hemisellulosaan. Käytettävällä polysakkaridilla sekä sen pitoisuudella havaittiin olevan vaikutusta syntyneen geelin rakenteen pysyvyyteen. Glukuronoksyalaani (>5 kDa) paransi rakenteen pysyvyyttä sen pitoisuuden ollessa 0,25 % verrattuna 0,125 % pitoisuuteen. Vertailunäyte ilman

lisättyä polysakkaridia oli rakenteen pysyvyyden osalta samankaltainen kuin 0,25 % glukuronoksylaania sisältävä näyte. Näytteen arabikumipitoisuuden ollessa 0,25 % näytteen rakenteen pysyvyys ei ollut yhtä hyvä kuin vastaavan määrän glukuronoksylaania (> 5 kDa) sisältäneellä näytteellä. Arabikumin pitoisuuden ollessa 0,5 % rakenteen pysyvyys oli samankaltainen kuin 0,25 % glukuronoksylaania (>5 kDa) sisältäneellä näytteellä. Erot rakenteiden pysyvyydessä voivat johtua kyseisten polysakkaridien reologisista ominaisuuksista. Glukuronoksylaanin on havaittu käyttäytyvän yli 5 % liuoksina leikkausohenevasti ja omaavan geelimäisiä ominaisuuksia pitoisuuden kasvaessa (Ebringerová ja Heinze 2000; Ebringerová ym. 2005). Nämä glukuronoksylaaniliuoksen ominaisuudet riippuvat pääasiassa glukuronoksylaanin runkoon kiinnittyneiden uronihappojen karboksyyliyhymien varauksista. Arabikumi puolestaan käyttäytyy newtonisesti ja arabikumiliuoksen viskositeetti on alhainen aina 10 % pitoisuuteen asti (Baray 2009; Nussinovitch ja Hirashima 2013). Arabikumiliuoksen pitoisuuden ollessa noin 30 % liuoksen viskositeetti alkaa kasvamaan ja liuoksen virtausominaisuudet muuttuvat pseudoplastisiksi. Glukuronoksylaanin kyky muodostaa viskoosempia liuoksia pienemmillä pitoisuuksilla verrattuna arabikumiin saattoi vaikuttaa näytteiden vesifaasien viskositeetteihin ja sitä kautta näytteiden rakenteen pysyvyyteen.

Tuhkapitoisuudella ei havaittu olevan vaikutusta näytteiden rakenteen pysyvyyteen pH:n ollessa 6,7. Näytteet ilman lisättyä polysakkaridia sekä glukuronoksylaania sekä arabikumia sisältävien näytteiden rakenteet hajosivat noin vuorokauden säilytyksen jälkeen. Rakenteen hajoamisen syynä voi mahdollisesti olla käytetyn maitoproteiinijauheen heikko liukoisuus. Fang ym. (2011) havaitsivat tutkimuksessaan maitoproteiinijauheen säilytysajan ja säilytyslämpötilan vaikuttavan merkittävästi jauheen liukoisuuteen. Jauheesta valmistetun liuoksen partikkelikoko kasvoi säilytysajan ja säilytyslämpötilan kasvaessa. Näytteissä käytetyssä maitoproteiiniliuoksessa ei ollut silmin havaittavia partikkeleita eikä liuoksessa tapahtunut sedimentaatiota näytteiden valmistuksen aikana. Liuoksen partikkelikoko saattoi kuitenkin olla niin suuri, että sedimentaatiota alkoi tapahtumaan vuorokauden säilytyksen jälkeen.

Proteiinin ja polysakkaridin väliset vuorovaikutukset

Maitoproteiinin ja polysakkaridien välisiä vuorovaikutuksia tarkasteltiin tarkemmin maidon luontaisessa pH:ssa (6,7). Fluoresenssispektrometrillä sekä Zetasizerilla tehdyissä mittauksissa havaittiin eroja glukuronoksylaania (>5 kDa) ja arabikumia sisältävien näytteiden välillä. Stern-Volmerin yhtälöön sovitettua suoraa polysakkaridipitoisuuden vaikutuksesta

maitoproteiinia sisältävän näytteen emissiospektriin osoittavat glukuronoksyalaanin vaikuttavan voimakkaammin emittoituvan säteilyn voimakkuuteen kuin arabikumi.

Järjestelmässä tapahtuvilla muutoksilla on vaikutusta tryptofaanin fluoresenssiin (Perez ym. 2009). Glukuronoksyalaanin (>5 kDa) voimakkaampi vaikutus fluoresenssiin voi siis johtua glukuronoksyalaanin arabikumia voimakkaammista vuorovaikutuksista maitoproteiinin kanssa. Tarkasteltaessa liuosten sähkönjohtavuuksia glukuronoksyalaanin ja arabikumin välillä voidaan havaita eroavaisuuksia. Glukuronoksyalaani- ja arabikumiliuoksen sähkönjohtavuudet olivat lähes samat (3,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ja 3,2 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Kumpikin polysakkaridi on negatiivisesti varautunut pH:n ollessa 7. Sekä glukuronoksyalaanin että arabikumin negatiivinen kokonaisvaraus on seurausta niiden rakenteeseen liittyneistä glukuronihapporyhmistä, joiden pK_a arvo on 2,9 (Wang ym. 1991; Baray 2009). Maitoproteiinin nettovaraukset neutraalissa pH:ssa ovat negatiiviset (Klein ym. 2010; Broyard ja Gaucheron 2014). Proteiinit sisältävät kuitenkin positiivisesti varautuneita kohtia, jotka mahdollisesti voivat luoda sähköisiä vuorovaikutuksia negatiivisesti varautuneiden polysakkaridien kanssa. Klein ym. (2010) havaitsivat tutkiessaan heraproteiinin ja arabikumin välisiä vuorovaikutuksia näytteiden sähkönjohtavuuden olevan pienempi proteiinia ja polysakkaridia sisältävässä liuoksessa kuin pelkkää proteiinia tai polysakkaridia sisältävässä liuoksessa. Sähkönjohtavuuden pienenemisen pääteltiin johtuvan proteiinin ja polysakkaridin välille muodostuvista sähköisistä vuorovaikutuksista, jotka neutraloivat molekyylien varauksia. Tämän työn tuloksissa proteiinin ja polysakkaridin yhdistäminen nosti sähkönjohtavuutta. Lisääntynyt sähkönjohtavuus on mahdollisesti seurausta näytteeseen lisäystä maitosuolajauheesta, jonka sisältämät ionit vaikuttivat näytteiden sähkönjohtavuuteen. Glukuronoksyalaania (>5 kDa) ja maitoproteiinia sisältävän näytteen sähkönjohtavuudeksi mitattiin $22,7 \pm 0,4 \mu\text{S}/\text{cm}$ ja arabikumia ja maitoproteiinia sisältävän näytteen sähkönjohtavuudeksi $26,0 \pm 0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$. Näytteiden koostumukset erosivat toisistaan ainoastaan lisätyn polysakkaridin osalta. Glukuronoksyalaania sisältävän näytteen pienempi sähkönjohtavuus voi olla seurausta voimakkaammista sähköisistä vuorovaikutuksista proteiinien ja glukuronoksyalaanin välillä verrattuna arabikumiin. Tämä tulos on saman suuntainen fluoresenssispektrometrillä määritettyjen himmentämisvaikeuksien kanssa, jotka myös antoivat viitteitä glukuronoksyalaanin muodostavan enemmän vuorovaikutuksia maitoproteiinin kanssa kuin arabikumi.

Hemiselluloosien vaikutus rakenteen pysyvyyteen

Eri hemiselluloosia sisältävien näytteiden rakenteen pysyvyydessä havaittiin eroavaisuuksia. Yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävän koivun glukuronoksyalaanin ja vehnän oljen hemiselluloosan välillä ei ollut merkittävää eroa näytteiden rakenteen pysyvyydessä. Koko fraktion sisältävää koivun glukuronoksyalaania sisältävän näytteen rakenne ei ollut yhtä pysyvä kuin yli 5 kDa kokoista glukuronoksyalaania tai vehnän oljen hemiselluloosa sisältävien näytteiden. Näytteiden väliset erot ovat todennäköisesti seurausta käytettyjen hemiselluloosien rakenteellisista eroista. Koivun glukuronoksyalaani koostuu nimensä mukaisesti β -(1 \rightarrow 4) –sitoutuneista D-ksylopyranoosiyksiköistä ja runkoon kiinnittyneistä 4-O-metyyli-D-glukuronihapoista (Teleman 2009). Vehnän oljen hemiselluloosa puolestaan koostuu pääasiassa arabinoksyalaanista ja uronihapoista (L-arabino-O-asetyyli-4-O-metyyli-D-glukuronoksyalaani) (Sun ym. 1996; Peng ja Wu 2010). Hemiselluloosien uuttoprosessilla on suuri vaikutus lopputuotteen rakenteeseen ja saantoon (Mikkonen ym. 2019). Hemiselluloosien käyttäytyminen disperseissa järjestelmissä riippuu hemiselluloosien molekyylipainosta ja puhtaudesta. Mikkonen ym. (2019) määrittivät tutkimuksessaan käyttämänsä glukuronoksyalaanin molekyylipainoksi noin 4,5 kDa. Glukuronoksyalaanista erotettujen suurimpia molekyylejä sisältävän fraktion molekyylipainoksi määritettiin 8,3 kDa. Tässä työssä käytetyt glukuronoksyalaanit sisälsivät koko fraktion tai vain yli 5 kDa kokoisia molekyylejä. Molekyylien koolla on vaikutusta liuoksen viskositeettiin (Walstra 2003). Viskositeetti kasvaa molekyylikoon kasvaessa lisääntyneiden vuorovaikutusten johdosta. Havaitut erot kahden tutkitun glukuronoksyalaanin välillä mahdollisesti johtuvat eroista molekyylien koossa. Vaikka koko fraktion sisältävä glukuronoksyalaani sisältää myös suuria molekyylejä, niiden suhteellinen osuus on paljon pienempi verrattuna vain yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävään glukuronoksyalaaniin. Sun ym. (2005) määrittivät vehnän oljen hemiselluloosan molekyylikooksi 16–18 kDa. Vehnän oljessa oleva arabinoksyalaani sisältää fenolihappoja, joiden välillä tapahtuvat hapettavat kyt-kentäreaktiot muodostavat vuorovaikutuksia arabinoksyalaaniketjujen välille (Ebringerová 2006). Näiden vuorovaikutusten uskotaan lisäävän kyseisen hemiselluloosan kykyä vaikuttaa vesifaasin viskositeettiin. Tulosten samankaltaisuudet vehnän oljen hemiselluloosan ja yli 5 kDa kokoisia molekyylejä sisältävän glukuronoksyalaanin välillä voivat johtua kummankin molekyylin kyvystä vaikuttaa vesifaasin viskositeettiin samankaltaisesti.

3.4.2 Jogurttimallikokeet

Näytteiden rakenne

Jogurtinäytteiden viskositeettien määrittelyssä havaittiin vertailunäytteen sekä ksylaania sisältävän näytteen viskositeettien olevan korkeampia kuin arabikumia sisältävän näytteen sekä yhden viikon, että kolmen viikon kuluttua valmistuksesta. Erot ksylaania (>5 kDa) ja arabikumia sisältävien näytteiden välillä voivat johtua eroista polysakkaridien kyvyissä lisätä vesifaasin viskositeettia. Ksylaani muodostaa viskoosimman liuoksen kuin arabikumi pitoisuuksien ollessa yhtä suuret. Arabikumia sisältävän näytteen matalampi viskositeetti voi olla seurausta proteiinirakenteen tiiviimmästä rakenteesta. Tiiviimpi rakenne johtuu järjestelmässä olevasta osmoottisesta paine-erosta (McClements 2005). Polysakkaridimolekyylit eivät mahdu proteiiniaggregaattien väliseen tilaan, jolloin järjestelmään syntyy alueita, joiden polysakkaridipitoisuudet eroavat toisistaan. Tämä luo järjestelmään osmoottisen paine-eron, joka pyrkii tasoittumaan poistamalla proteiiniaggregaattien välisen tyhjän tilan. Polysakkaridipitoisuuden ollessa korkeampi, järjestelmän vesifaasin viskositeetti on korkeampi, jolloin proteiiniaggregaattien liike on vähäisempää eikä osmoottista paine-eroa pääse syntymään. Everett ja McLeod (2005) havaitsivat samankaltaisen ilmiön tutkiessaan polysakkaridien ja kaseiiniaggregaattien välisiä vuorovaikutuksia. Johanneksenleipäpuujauheen ja guarkumin havaittiin laskevan näytteen viskositeettia 0,1 % polysakkaridipitoisuuksilla verrattuna vertailunäytteeseen, joka ei sisältänyt lisättyä polysakkaridia. Näytteiden viskositeetti oli vertailunäytettä korkeampi, kun polysakkaridipitoisuus oli 0,5 %. Ksylaanin kyky muodostaa viskoosimman liuoksen mahdollisesti vähensi proteiiniaggregaattien liikettä, jolloin osmoottista paine-eroa ei päässyt syntymään. Lisäksi vuorovaikutustesteissä havaitut arabikumia voimakkaammat vuorovaikutukset maitoproteiinin kanssa saattoivat estää proteiiniaggregaattien väliin muodostuvien tyhjien tilojen syntymisen.

Jogurtinäytteiden viskositeeteissa havaittiin eroja myös mittausajankohtien välillä. Jogurtinäytteiden viskositeetit olivat korkeampia kolme viikkoa valmistuksen jälkeen kuin viikko valmistuksen jälkeen. Muutokset jogurtinäytteiden viskositeeteissa selittyvät jogurtin rakenteen palautumisesta, joka on ajasta riippuvainen ilmiö (Renan ym. 2008; Lee ja Lucey 2010). Jogurtin geelirakenne rikkoutuu valmistusprosessin aikana tapahtuvan sekoituksen seurauksena. Sekoituksen tarkoituksena on varmistaa jogurtin koostumuksen tasaisuus sekoittamalla hapatuksen aikana erottuneet faasit takaisin yhdeksi faasiksi. Rakenteen palautuminen alkaa jogurtin jäähtymisen aikana, jolloin proteiinien välille muodostuu elastisia

sidoksia. Säilytyksen aikana tapahtuvan rakenteen palautumisen arvellaan johtuvan hapatebakteerin aineenvaihdunnasta syntyvistä hapoista ja eksopolysakkarideista. Myös proteiinien hydrataatiolla saattaa olla vaikutusta säilytyksen aikana tapahtuvaan rakenteen palautumiseen.

Jogurttinäytteiden viskositeetti jäi haluttua matalammaksi. Jogurttinäytteiden rakenne vastasi lähinnä juotavan jogurtin rakennetta, kun tavoitteena oli sekoitettua jogurttia vastaava rakenne. Tamimen ja Robinsonin (2007) mukaan jogurtin matala viskositeetti voi olla seurausta esimerkiksi jogurtin matalasta liukoisen kuiva-aineen pitoisuudesta tai valmistukseen käytetystä hapatteesta. Valmistettujen jogurttinäytteiden liukoisen kuiva-aineen pitoisuudeksi mitattiin 6,1 °Bx. Jogurttiin käytettävän maidon liukoisen kuiva-aineen pitoisuus on tyypillisesti noin 8 %, joten korkeammalla liukoisen kuiva-aineen pitoisuudella näytteiden rakenteet olisivat voineet olla lähempänä haluttua (Tamime ja Robinson 2007). Matala kuiva-aineen pitoisuus johtui käytetystä laktoosittomattomasta ja vähärasvaisesta maitoproteiinijauheesta. Liukoisten kuiva-aineiden lisäksi myös rasva lisää jogurtin viskositeettia (Lee ja Lucey 2010). Jogurttinäytteiden valmistamiseen käytetty hapate muodostaa valmistajan tietojen mukaan viskoosin geelin ja se näin ollen soveltuu sekoitejogurttien ja set type -jogurttien valmistukseen, joten jogurttinäytteiden matala viskositeetti ei todennäköisesti johdu valmistukseen käytetystä hapatteesta.

Jogurttinäytteiden aistinvaraisessa arvioinnissa selkein ero näytteiden välille muodostui rakenteen paksuudessa. Vertailunäyte sekä ksylaania sisältävä näyte arvioitiin rakenteeltaan paksummaksi kuin arabikumia sisältävä näyte. Aistinvaraisen arvioinnin tulokset tukevat instrumentaalisesti mitattuja viskositeetteja. Näytteessä käytetty arabikumipitoisuus heikentää jogurttinäytteen mitattua ja aistittua viskositeettia.

Kunkin jogurttinäytteen aistinvaraisen arvioinnin vapaissa kommentteissa korostui rakenteen epätasaisuus ja heroittuminen. Rakennetta kuvailtiin jokaisen jogurttinäytteen kohdalla rakeiseksi. Jogurtin valmistukseen käytettyjen jauheiden epätasainen vettyminen voi aiheuttaa rakenteen epätasaisuutta (Tamime ja Robinson 2007; Lee ja Lucey 2010). Jogurttinäytteiden valmistukseen käytettyjen jauheiden annettiin ennastua kylmähuoneessa yön yli ennen massan lämpökäsittelyä ja homogenointia. Kaikki jauheet eivät olleet lienneet yön aikana, mutta homogenoinnin ja lämpökäsittelyn jälkeen massa oli tasaista. Maitoproteiinijauheen varastointiajan ja varastointilämpötilan on kuitenkin havaittu vaikuttavan sen liukoisuuteen (Fang ym. 2011). Jogurttinäytteisiin käytetyn maitoproteiinijauheen valmistuspäivämäärä

on 2.5.2018, joten on mahdollista, että käytetyn jauheen liukoisuusominaisuudet olivat heikentyneet varastoinnin aikana. Jogurtin kuiva-ainepitoisuudella on merkittävä vaikutus heran erottumiseen (Lucey 2004; Lee ja Lucey 2010). Jogurttinäytteiden liukoisen kuiva-aineen pitoisuus oli 6,1 °Bx, kun tyypillisesti jogurtin valmistukseen käytettävän maidon liukoisen kuiva-aineen pitoisuus on noin 8 % (Tamime ja Robinson 2007). Jogurttinäytteissä tapahtunut heran erottuminen oli todennäköisesti seurausta näytteiden normaalia matalammasta liukoisen kuiva-aineen pitoisuudesta.

Näytteiden maku

Maun osalta jogurttinäytteiden välillä ei havaittu eroja. Kussakin näytteessä jogurttimaisen aromin voimakkuus aistittiin heikoksi ja näytteissä oli voimakas epämiellyttäväksi kuvailtu sivumaku. Jogurtille ominainen aromi muodostuu maitohapon sekä muiden hapatuksen aikana syntyvien ja maidossa luontaisessa esiintyvien yhdisteiden kuten esimerkiksi asetaldehydin ja muiden karbonyyliyhdisteiden sekoituksesta (Cheng 2010). Jogurttinäytteissä käytetty hapate tuottaa aromiltaan miedon jogurtin, mikä osaltaan selittää näytteistä aistittua jogurttimaisen aromin mietoutta. Näytteissä esiintynyt sivumaku mahdollisesti peitti alleen näytteiden jogurttimaisen aromin. Voimakas sivumaku saattaa olla peräisin jogurtin valmistuksessa käytetystä maitoproteiinijauheesta, jossa oli tapahtunut jauheen kuivauksen aikana Maillard-reaktiota. Myös maitoproteiinijauheen epätasainen vettyminen voi aiheuttaa jogurttiin sivumakuja (Lee ja Lucey 2010). Sivumaun lisäksi näytteiden maussa korostui suolaisuus. Jogurttinäytteet valmistettiin maitoproteiinijauheesta, josta oli poistettu laktoosia ja maidon mineraaleja. Jogurttinäytteiden tuhkapitoisuus säädettiin halutulle tasolle lisäämällä näytteisiin maitosuolajauhetta. Näytteiden suolapitoisuudeksi laskettiin 0,19 %, kun rasvatoman maustamattoman jogurtin suolapitoisuus on keskimäärin 0,11 % (Fineli 2019). Suolapitoisuuden laskemiseen käytettiin maitoproteiinijauheen ja maitosuolan sisältämän natriumin määrää (Ruokavirasto 2019). Jogurttinäytteiden korkeampi suolapitoisuus verrattuna keskimääräiseen suolapitoisuuteen aiheutti näytteisiin voimakkaan suolaisen maun.

4 Päätelmät

Työn tulokset osoittivat glukuronoksyalaanin (>5 kDa) ja arabikumin vaikuttavan eri tavoin maidon proteiineja sisältävän järjestelmän ominaisuuksiin. Näytteiden koostumuksen ja pH:n havaittiin vaikuttavan näytteiden rakenteen pysyvyyteen. Näytteiden liukoisen kuiva-ainepitoisuuden nosto paransi näytteisiin pH:n laskun seurauksena muodostuneen proteiini-verkoston rakennetta. Vertailunäyte, joka ei sisältänyt lisättyä polysakkaridia ei eronnut rakenteen pysyvyyden osalta 0,25 % glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältävästä näytteestä. Arabikumi ei muodostanut 0,25 % pitoisuudella yhtä pysyvää rakennetta kuin vertailunäyte tai glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältävä näyte. Arabikumi pitoisuuden ollessa 0,5 % näytteen rakenteen pysyvyys oli samankaltainen kuin vertailunäytteellä ja glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältävällä näytteellä. Liukoisen kuiva-aineen pitoisuudella ei ollut vaikutusta näytteiden rakenteen pysyvyyteen pH:n ollessa 6,7. Rakenteen hajoamisen syynä oli mahdollisesti näytteiden valmistukseen käytetyn maitoproteiinijauheen varastoinnin seurauksena heikentynyt liukoisuus, joka saattoi aiheuttaa näytteissä sedimentoitumista pH:n ollessa 6,7.

Koivun glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältävän näytteen ja vehnän oljen hemiselluloosaa sisältävän näytteen välillä ei havaittu eroa rakenteen pysyvyydessä. Näytteiden välillä oli kuitenkin väriero, joka saattaa rajoittaa vehnän oljen hemiselluloosan käyttöä erityisesti väriältään vaaleissa elintarvikkeissa. Vehnän oljen hemiselluloosa oli väriältään ruskeampaa kuin koivun glukuronoksyalaani. Koko fraktion sisältävää koivun glukuronoksyalaania sisältävän näytteen rakenne ei ollut yhtä pysyvä kuin yli 5 kDa kokoista glukuronoksyalaania tai vehnän oljen hemiselluloosaa sisältävien näytteiden.

Koivun glukuronoksyalaanin (>5 kDa) ja maitoproteiinin välillä havaittiin voimakkaampia vuorovaikutuksia kuin arabikumin ja maitoproteiinin välillä. Koivun glukuronoksyalaanilla (>5 kDa) oli suurempi vaikutus maitoproteiinia sisältävän näytteen emissiospektriin kuin arabikumilla, mikä saattaa viitata voimakkaampien vuorovaikutusten läsnäoloon. Myös mitatut sähkönjohtavuudet antoivat saman suuntaisia tuloksia. Glukuronoksyalaania (>5 kDa) ja maitoproteiinia sisältävän näytteen sähkönjohtavuus (22,7 $\mu\text{S}/\text{cm}$) oli pienempi kuin arabikumia ja maitoproteiinia sisältävän näytteen sähkönjohtavuus (26,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$), kun näytteiden koostumukset erosivat ainoastaan polysakkaridin osalta. Pienempi sähkönjohtavuus voi olla seurausta proteiinin ja polysakkaridin sähköistenvuorovaikutusten seurauksena neutraloituneista varauksista.

Jogurttinäytteiden välillä havaittiin saman suuntaisia eroja glukuronoksyalaanin ja arabikumin välillä. Glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältäneen jogurttinäytteen viskositeetti oli saman kaltainen vertailunäytteen kanssa. Arabikumia sisältäneen jogurttinäytteen viskositeetti oli matalampi kuin glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältäneen jogurttinäytteen tai vertailunäytteen. Jokaisen jogurttinäytteen viskositeetti oli noussut varastoinnin aikana. Viskositeettien nousu selittyy jogurtin rakenteen palautumisella, joka on ajasta riippuvainen ilmiö. Jogurtin valmistuksen aikana rikkoutuneen geelirakenteen palautuminen johtuu muun muassa proteiinien välille muodostuvista elastisista sidoksista. Vertailunäyte ja glukuronoksyalaania sisältänyt jogurttinäyte erosivat arabikumia sisältäneestä jogurttinäytteestä myös aistinvaraisessa arvioinnissa. Vertailunäytteen ja glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältäneen jogurttinäytteen rakenne arvioitiin paksummaksi kuin arabikumia sisältäneen jogurttinäytteen. Jogurttinäytteiden viskositeetit jäivät kuitenkin haluttua matalammiksi matalan liukoisen kuiva-ainepitoisuuden vuoksi. Näytteiden liukoisen kuiva-aineen pitoisuus oli 6,1 °Bx, kun tyypillisesti jogurtin valmistukseen käytettävän maidon liukoisen kuiva-aineen pitoisuus on noin 8 %. Matala liukoisen kuiva-aineen pitoisuus johtui käytetystä maitoproteiinijauheesta, josta oli poistettu mineraaleja ja laktoosia. Jatkossa jogurttinäytteiden liukoisen kuiva-aineen pitoisuutta tulisi nostaa, jotta näytteiden rakenteesta saataisiin halutun kaltainen.

Jogurttinäytteiden maun aistinvaraisessa arvioinnissa jokaisen näytteen kohdalla nousi esiin voimakas epämiellyttäväksi kuvattu sivumaku ja näytteen suolaisuus. Sivumaku on mahdollisesti seurausta käytetystä maitoproteiinijauheesta. Maitoproteiinijauheen epätasainen vettyminen tai maitoproteiinijauheen valmistuksen aikana tapahtunut Maillard-reaktio ovat voineet vaikuttaa sivumaun voimakkuuteen. Suolainen maku on seurausta tuhkapitoisuuden säätöön käytetystä maitosuolajauheesta. Näytteiden suolapitoisuus oli 0,19 % maitoproteiinijauheen ja maitosuolajauheen sisältämän natriumin avulla laskettuna, kun rasvattoman maustamattoman jogurtin suolapitoisuus on keskimäärin 0,11 %. Näytteiden maun parantamiseksi jogurttinäytteet olisi hyvä valmistaa maidosta jauhemaisten raaka-aineiden sijaan. Näin saataisiin poistettua raaka-aineista johtuvat sivumaut sekä pienennettyä näytteiden suolapitoisuutta, jolloin polysakkaridien näytteeseen tuomat maut pääsisivät paremmin esille.

Lähteet

- A&D Instruments. Tuning Fork Vibro Viscometer SV-10/SV-100. Saatavilla: https://www.aandd.jp/products/test_measuring/pdf/sv.pdf.
- Akbar A, Shakeel A. 2016. Natural polymers: an overview. Teoksessa: Shakeel A, Saiqa I, toim. Natural polymers: derivatives, blends and composites. New York: Nova Publishers. s. 1-21.
- Amenu B, Deeth HC. 2007. The impact of milk composition on cheddar cheese manufacture. *Aust J Dairy Technol* 62(3):171-84.
- Area MC, Popa V. 2014. Wood fibres for papermaking. Shrewsbury: Smithers Pira. 120 s.
- Bahram-Parvar M, Razavi SMA. 2012. Rheological interactions of selected hydrocolloid-sugar-milk-emulsifier systems. *Int J Food Sci Tech* 47:854-60.
- Baray S. 2009. Acacia gum. Teoksessa: Cho S, Samuel P, toim. Fiber ingredients: food applications and health benefits. Boca Raton: CRC Press. s 121-34.
- Bhattarai M, Pitkänen L, Kitunen V, Korpinen R, Ilvesniemi H, Kilpeläinen PO, Lehtonen M, Mikkonen KS. 2019. Functionality of spruce galactoglucomannans in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 86:154-61.
- Bouyer E, Mekhloufi G, Le Potier I, du Fou de Kerdaniel T, Grossiord JL, Rosilio V, Agnely F. 2011, Stabilization mechanism of oil-in-water emulsions by β -lactoglobulin and gum arabic. *J Colloid Interf Sci* 354:467-77.
- Broyard C, Gaucheron F. 2014. Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. *Dairy Sci Technol* 95:831-62
- Chandan RC. 2013. History and consumption trends. Teoksessa: Chandan RC, Kilara A, toim. Manufacturing yogurt and fermented milks. 2. p. Chichester: Wiley-Blackwell. s 3-20.
- Chandan RC, O'Rell K. 2013. Principles of yogurt processing. Teoksessa: Chandan RC, Kilara A, toim. Manufacturing yogurt and fermented milks. 2. p. Wiley-Blackwell, UK. s 239-61.
- Cheng H. 2010. Volatile flavor compounds in yogurt: a review. *Crit Rev Food Sci* 50:938-50.
- Cheng J, Ma Y, Li X, Yan T, Cui J. 2015. Effects of milk protein-polysaccharide interactions on the stability of ice cream mix model systems. *Food Hydrocolloids* 45:327-36.
- Chityala PK, Khouryieh H, Williams K, Conte E. 2016. Effect of xanthan/enzyme-modified guar gum mixtures on the stability of whey protein isolate stabilized fish oil-in-water emulsions. *Food Chemistry* 212:332-40.
- Chuah AM, Kuroiwa T, Kobayashi I, Nakajima M. 2014. The influence of polysaccharide on the stability of protein stabilized oil-in-water emulsion prepared by microchannel emulsification technique. *Colloid Surfaces A* 440:136-44.
- Corredig M, Sharafbafi N, Kristo E. 2011. Polysaccharide-protein interactions in dairy matrices, control and design of structures. *Food Hydrocolloids* 25:1833-41.
- Damodaran S. 2017. Amino acids, peptides, and proteins. Teoksessa: Damodaran S, Fennema OR, Parkin KL, toim. Fennema's food chemistry. 5. p. Boca Raton: CRC Press. s 235-356.
- Douplier JL, Garnier C, Renard D, Sanchez C. 2000. Protein-polysaccharide interactions. *Curr Opin Colloid In* 5:202-14.
- Ebringerová A, Heinze T. 2000. Naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties. *Macromol Rapid Comm* 21(9):542-56.
- Ebringerová A, Hromádková Z, Heinze T. 2005. Hemicellulose. *Adv Polym Sci* 186:1-67.

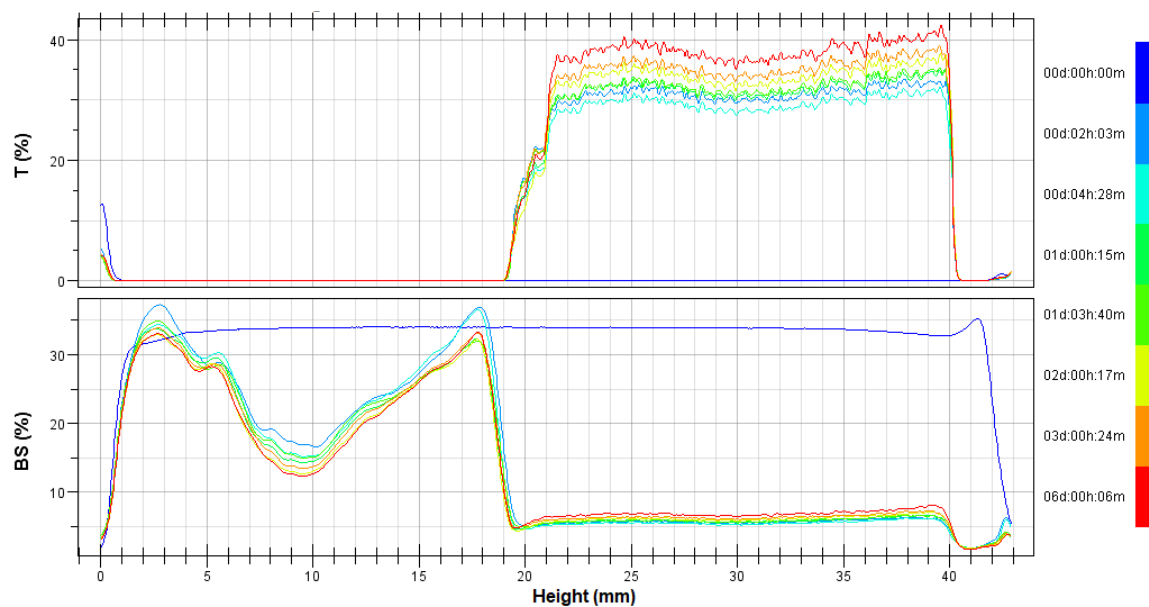
- Ebringerová A. 2006. Structural diversity and application potential of hemicelluloses. *Macromol Symp* 232:1-12.
- Everett DW, McLeod RE. 2005. Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skin-milk yoghurt. *Int Dairy J* 15:1175-83.
- Fang Y, Selomulya C, Ainsworth S, Palmer M, Chen XD. 2011. On quantifying the dissolution behavior of milk protein concentrate. *Food Hydrocolloids* 25: 503-10.
- Fineli. 2019. Jogurtti, maustamatton, rasvaton. Saatavilla: <https://fineli.fi/fineli.fi/elintarvikkeet/32598?q=rasvaton%20jogurtti&foodType=ANY&portionUnit=G&portionSize=100&sortByColumn=name&sortOrder=asc&component=2331&>.
- Galante M, Boeris V, Álvarez E, Risso P. 2017. Microstructural and textural properties of rennet-induced milk protein gel: effect of guar gum. *Int J Food Prop* 20(S3):2569-78.
- Ghosh AK, Bandyopadhyay. 2012. Polysaccharide-protein interactions and their relevance in food colloids. Teoksessa: Karunaratne DN, toim. The complex world of polysaccharides. IntechOpen. s 395-408.
- Huber KC, BeMiller JN. 2017. Carbohydrates. Teoksessa: Damodaran S, Fennema OR, Parkin KL, toim. Fennema's food chemistry. 5. p. Boca Raton: CRC Press. s 91-169.
- Imeson AP. 2000. Carrageenan. Teoksessa: Phillips GO, Williams PA, toim. Handbook of hydrocolloids. Boca Raton: CRC Press. s 87-102.
- Khalesi H, Emadzadeh B, Kadkhodae R, Fang Y. 2016. Whey protein isolate-Persian gum interaction at neutral pH. *Food Hydrocolloids* 59:45-9.
- Kishani S, Vilaplana F, Xu W, Xu C, Wågberg L. 2018. Solubility of softwood hemicelluloses. *Biomacromolecules* 19:1245-55.
- Klein M, Aserin A, Ishai PB, Garti N. 2010. Interactions between whey protein isolate and gum Arabic. *Colloid Surface B* 79:377-83.
- Laine P, Lampi AM, Peura M, Kansikas J, Mikkonen K, Willför S, Tenkanen M, Jouppila K. 2010. Comparison of microencapsulation properties of spruce galactoglucomannans and Arabic gum using a model hydrophobic core compound. *J Agric Food Chem* 58:981-9.
- Lee WJ, Lucey JA. 2010. Formation and physical properties of yogurt. *Asian Austral J Anim* 23(9):1127-36.
- Lehtonen M, Teräslahti S, Xu C, Yadav MP, Lampi AM, Mikkonen KS. 2016. Spruce galactomannans inhibit lipid oxidation in rapeseed oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 58:255-66.
- Li JM, Nie SP. 2016. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids* 53:46-61.
- Lucey JA, Munro PA, Singh H. 1998. Whey separation in acid skim milk gels made with glucono- δ -lactone: effects of heat treatment and gelation temperature. *J Texture Stud* 29: 4113-26.
- Lucey JA, Tamehana M, Singh H, Munro PA. 2000. Rheological properties of milk gels formed by combination of rennet and glucono- δ -lactone. *J Dairy Res* 67: 415-27.
- Lucey JA. 2004. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *Int J Dairy Technol* 57(2/3):77-84.
- Luonnonvarakeskus. 2018. Ravintotase 2017 ennakko ja 2016 lopulliset tiedot [sähköinen julkaisu]. Saatavilla: https://stat.luke.fi/ravintotase-2017-ennakko-ja-2016-lopulliset-tiedot_fi.
- Nieto MB, Akins M. 2011. Hydrocolloids in bakery fillings. Teoksessa: Laaman T, toim. Hydrocolloids in food processing. Oxford: Wiley-Blackwell. s 67-107.
- Mathur NK. 2012. Industrial galactomannan polysaccharides. Boca Raton: CRC Press. 165 s.

- May CD. 2000. Pectins. Teoksessa: Phillips GO, Williams PA, toim. Handbook of hydrocolloids. Boca Raton: CRC Press. s 169-88.
- McClements DJ. 2005. Food emulsions principles, practices, and techniques. 2. p. Boca Raton: CRC Press. 609 s.
- McClements DJ. 2006. Non-covalent interactions between proteins and polysaccharides. *Biotechnol Adv* 24:621-25.
- Mengual O, Meunier G, Cayré I, Puech K, Snabre P. 1999. Turbiscan MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta* 50:445-56.
- Mikkonen KS, Kirjoranta S, Xu C, Hemming J, Pranovich A, Bhattarai M, Peltonen L, Kilpeläinen P, Maina N, Tenkanen M, Lehtonen M, Willför S. 2019. Environmentally-compatible alkyd paints stabilized by wood hemicelluloses. *Ind Crop Prod* 133:212-20.
- Mikkonen KS, Merger D, Kilpeläinen P, Murtomäki L, Schmidt US, Wilhelm M. 2016a. Determination of physical emulsion stabilization mechanisms of wood hemicelluloses via rheological and interfacial characterization. *Soft Matter* 12:8690-700.
- Mikkonen KS, Tenkanen M, Cooke P, Xu C, Rita H, Willför S, Holmbom B, Hicks KB, Yadav MP. 2009. Mannans as stabilizers of oil-in-water beverage emulsions. *Food Sci Tech* 42:849-55.
- Mikkonen KS, Xu C, Berton-Carabin C, Schroën K. 2016b. Spruce galactoglucomannans in rapeseed oil-in-water emulsions: efficient stabilization performance and structural partitioning. *Food Hydrocolloids* 52:615-24.
- Mikkonen KS, Yadav MP, Cooke P, Willför S, Hicks KB, Tenkanen M. 2008. Films from spruce galactoglucomannan blended with poly(vinyl alcohol), corn arabinoxylan, and konjac glukomannan. *BioResources* 3(1):178-91.
- Nussinovitch A, Hirashima M. 2013. Cooking innovations: using hydrocolloids for thickening, gelling, and emulsification. Boca Raton: Taylor & Francis/CRC Press. 384 s.
- Patino JMR, Pilosof AMR. 2011. Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids* 25:1925-37.
- Peng Y, Wu S. 2010. The structural and thermal characteristics of wheat straw hemicellulose. *J Anal Appl Pyrol* 88:134-9.
- Perez AA, Carrara CR, Sánchez CC, Patino JMR, Santiago LG. 2009. Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. *Food Chemistry* 116:104-13.
- Picone CSF, da Cunha RL. 2010. Interactions between milk proteins and gellan gum in acidified gels. *Food Hydrocolloids* 24:502-11.
- Pitkänen L, Heinonen M, Mikkonen KS. 2018. Safety considerations of plant polysaccharides for food use: a case study on phenolic-rich softwood galactoglucomannan extract. *Food Funct* 9:1931-43.
- Ravindran G, Matia-Merino L, Paracha GMU. 2010. Chemistry, structure & architecture, synergy & biodiversity of galactomannans. Teoksessa: Hollingworth CS, toim. Food hydrocolloids: characteristics, properties and structures. New York: Nova Science Publishers. s 205-24.
- Renan M, Guyomarc'h F, Arnoult-Delest V, Pâquet D, Brulé G. 2008. The rebodding of stirred yoghurt: interactions between proteins. *J Dairy Res* 75:450-6.
- Rohart A, Bouveresse DJR, Rutledge DN, Michon C. 2015. Spectrophotometric analysis of polysaccharide/milk protein interactions with methylene blue using Independent Components Analysis. *Food Hydrocolloids* 43:769-76.
- Rohart A, Moulin G, Michon C. 2014. Interplay between phase separation and gel formation in stirred acid milk/guar gum gels: effect of acidification rate. *Biopolymers* 101(9):966-74.

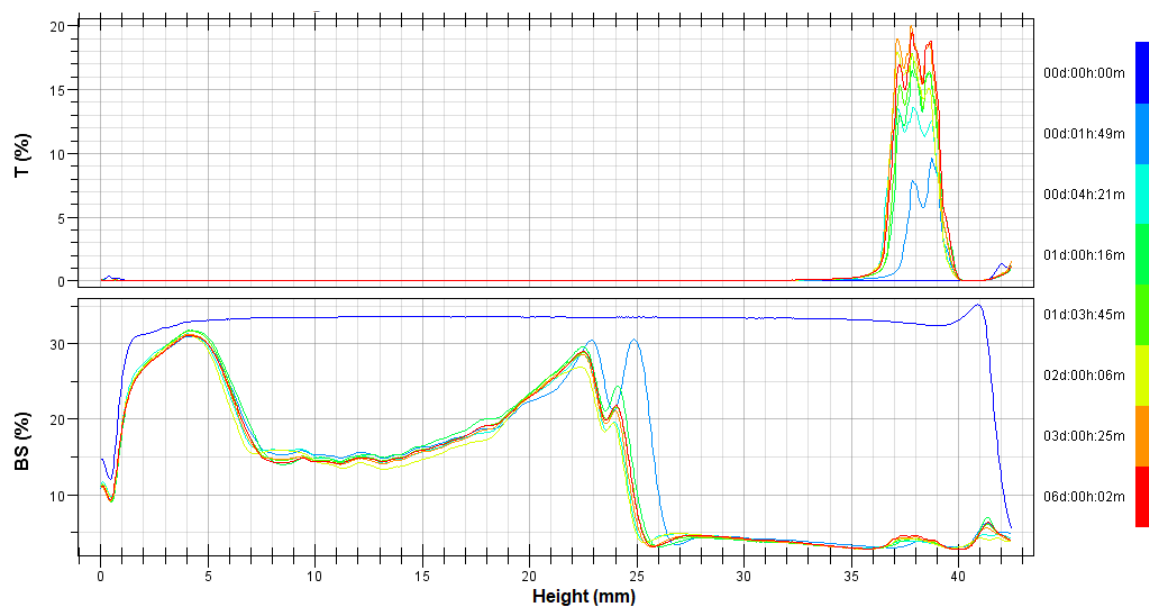
- Ruokavirasto. 2019. Elintarviketieto-opas elintarvikevalvojille ja elintarvikealan toimijoille. Saatavilla: https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/yritykset/elintarvike-ala/elintarvikealan-oppaat/elintarviketieto_opas_fi.pdf.
- Schmitt C, Sanchez C, Desobry-Banon S, Hardy J. 1998. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: a review. *Crit Rev Food Sci* 38(8):689-753.
- Schorsch C, Clark AH, Jones MG, Norton IT. 1999. Behaviour of milk protein/polysaccharide systems in high sucrose. *Colloid Surface B* 12:317-29.
- Sun R, Lawther JM, Banks WB. 1996. Fractional and structural characterization of wheat straw hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers* 29:325-31.
- Sun XF, Sun R, Fowler P, Baird MS. 2005. Extraction and characterization of original lignin and hemicelluloses from wheat straw. *J Agric Food Chem* 53:860-70.
- Tamime AY, Hassan A, Farnworth E, Toba T. 2007. Structure of fermented milk. Teoksessa: Tamime AY, toim. Structure of dairy products. Oxford: Blackwell Pub. 134-169.
- Tamime AY, Robinson RK. 2007. Tamime and Robinson's yoghurt – science and technology. 3. p. Boca Raton: CRC Press. 791 s.
- Tasande MG, Manriquez-Hernández JA. 2016. Carrageenan properties and applications: a review. Teoksessa: Pereira L, toim. Carrageenans: sources and extraction methods, molecular structure, bioactive properties and health effects. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers. s 17-49.
- Taverez C, Monteiro SR, Moreno N, da Silva JAL. 2005. Does the branching degree of galactomannans influence their effect on whey protein gelation?. *Colloid Surface A* 270-271:213-9.
- Teleman A. 2009. Hemicelluloses and pectins. In: Ek M, Gellerstedt G, Henriksson G, Ed. Pulp and paper chemistry and technology: Volume 1, Wood chemistry and wood biotechnology. Berlin: Walter de Gruyter. s 101-20.
- Tippetts M, Martini S. 2009. Effect of oil content and processing conditions on the thermal behavior and physicochemical stability of oil-in-water emulsions. *Int J Food Sci Tech* 44:206-15.
- Tippetts M, Martini S. 2012. Influence of ι-carrageenan, pectin, and gelatin on the physicochemical properties and stability of milk protein-stabilized emulsions. *J Food Sci* 77(2):253-60.
- Walstra P. 2003. Physical chemistry of foods. New York: Marcel Dekker. 807 s.
- Wang H, Loganathan D, Linhardt RJ. 1991. Determination of the pK_a of glucuronic acid and the carboxy groups of heparin by ¹³C-nuclear-magnetic-resonance spectroscopy. *Biochem J* 278:689-95.
- Wang S, Luo Z. 2017. Pyrolysis of biomass. Berlin: De Gruyter. 255 s.
- Wang D, Sun J, Huang G, Zhou X, Sun L. 2012. Carbohydrates. Teoksessa: Wang D, Lin H, Kan J, Liu L, Zeng X, Shen S, toim. Food Chemistry. New York: Nova Publishers. s. 35-105.
- Wielinga WC, Maehall AG. 2000. Galactomannans. Teoksessa: Phillips GO, Williams PA, toim. Handbook of hydrocolloids. Boca Raton: CRC Press. s 137-54.
- Xu C, Willför S, Sundberg K, Petterson C, Holmbom B. 2007. Physico-chemical characterization of spruce galactoglucomannan solutions: stability, surface activity and rheology. *Cellulose Chem Technol* 41(1):51-62.
- Yadav MP, Johnston DB, Hotchkiss Jr AT, Hicks KB. 2007. Corn fiber gum: a potential gum arabic replacer for beverage flavor emulsification. *Food Hydrocolloids* 21:1022-30.

Liite 1. Näytteiden GXHMM1–GXHMM8 Turbiscan-analyysit. T (%) = läpi mennyt valo (transmission), BS (%) = takaisin siroonnut valo (backscattering).

Näyte GXHMM1. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25%, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 4,6



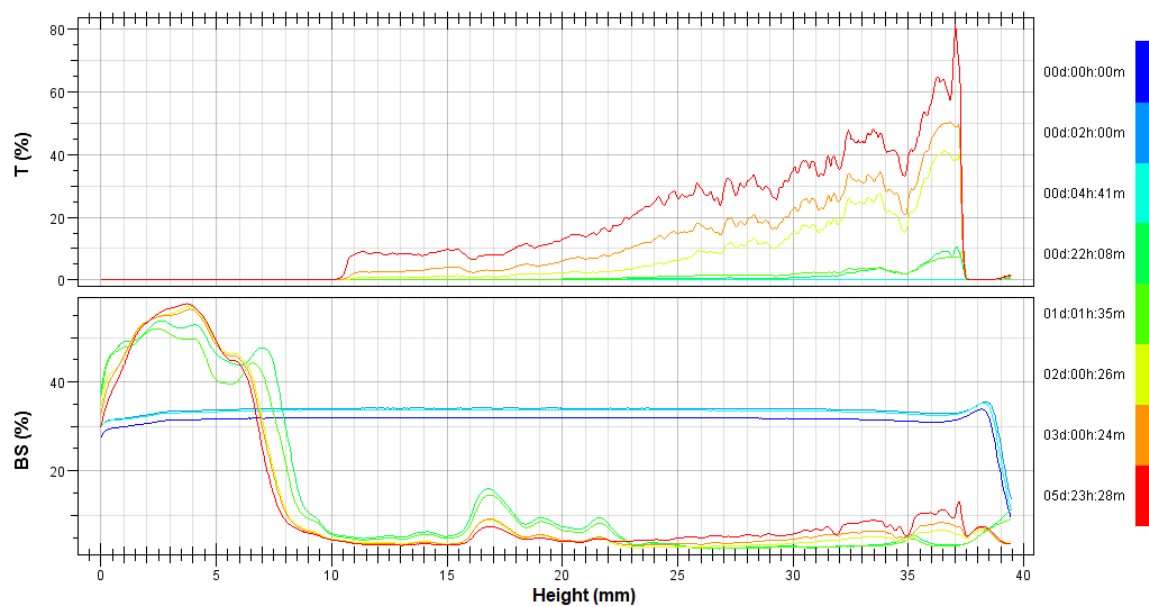
Näyte GXHMM2. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 4,6



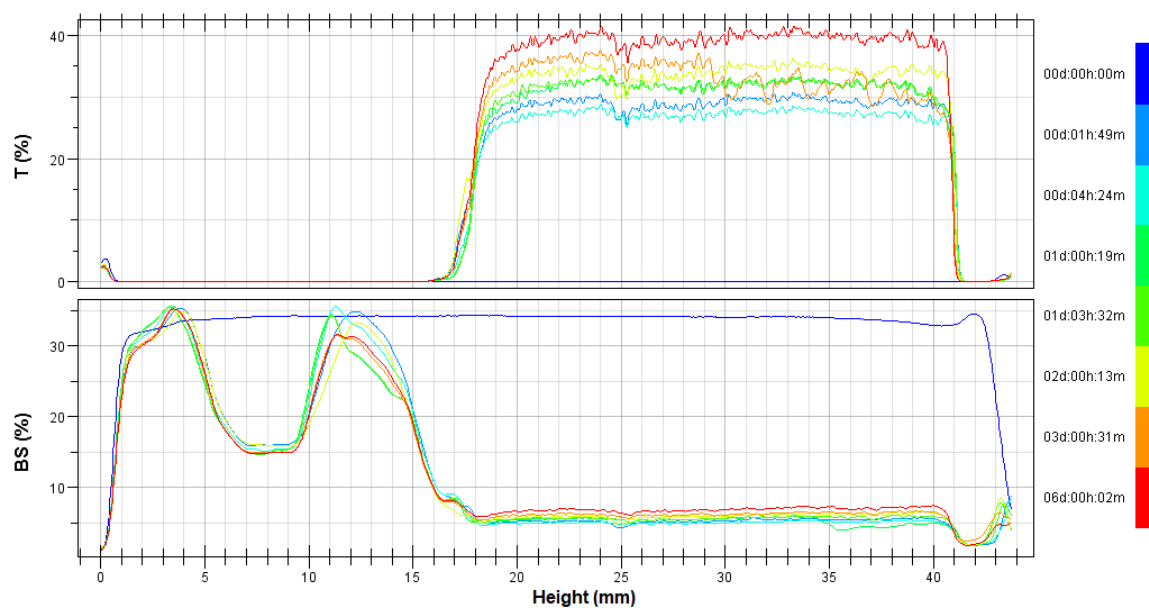
Näyte GXHMM3. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 6,7



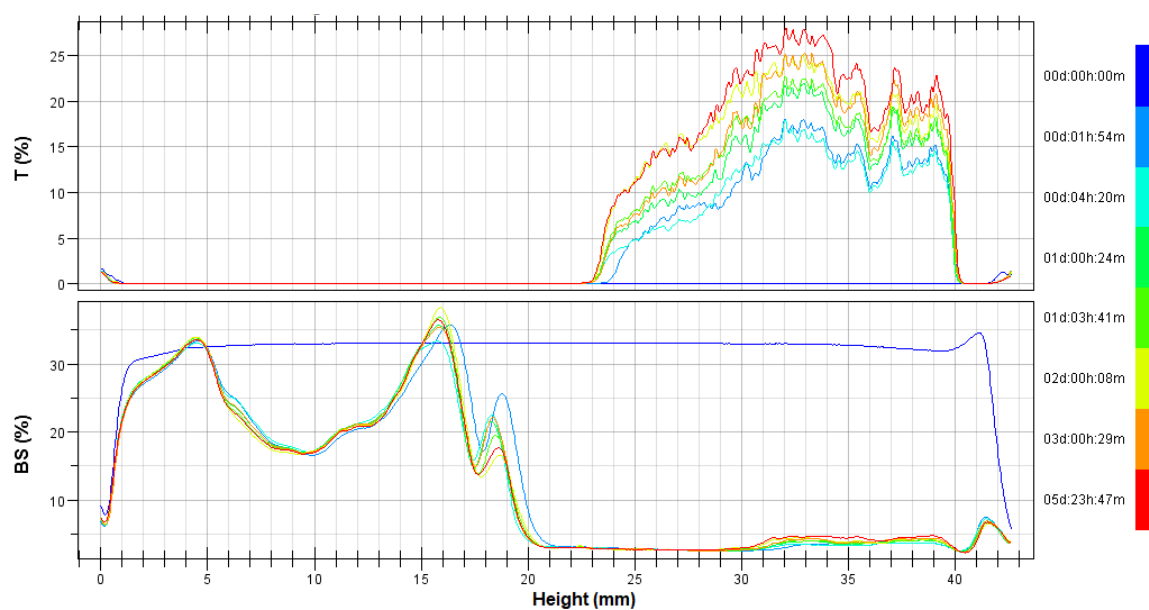
Näyte GXHMM4. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 6,7



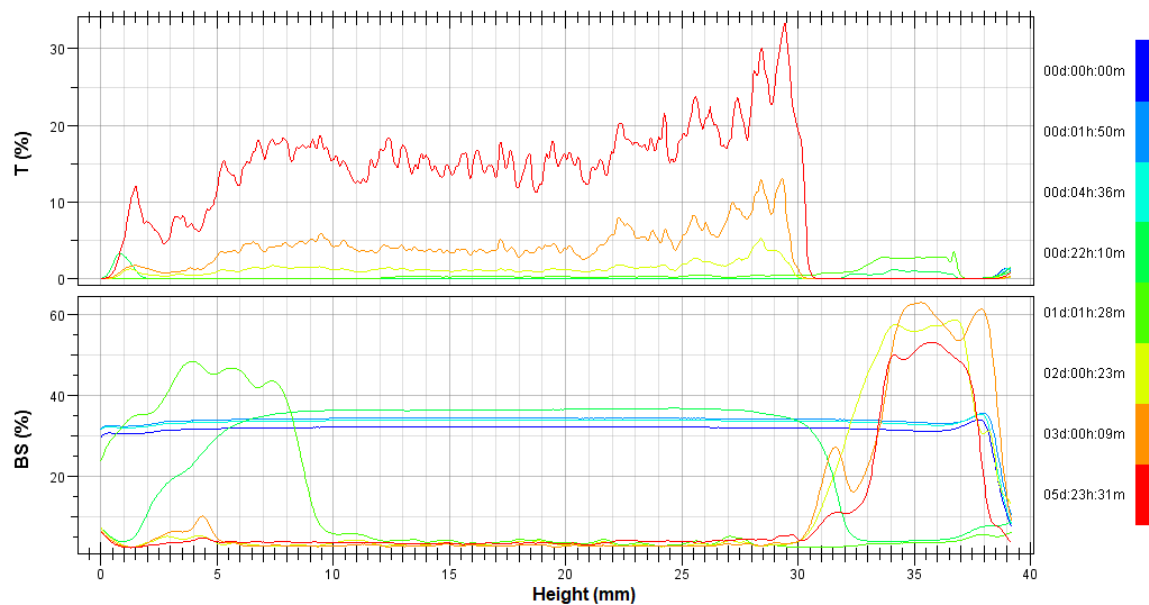
Näyte GXHMM5. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 4,6



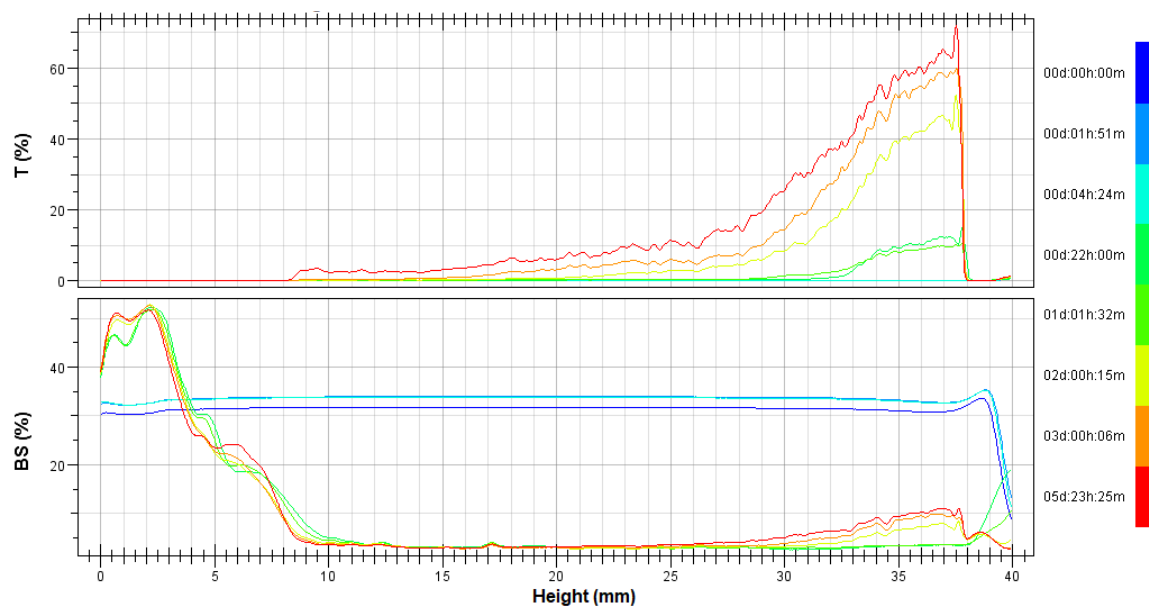
Näyte GXHMM6. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 4,6



Näyte GXHMM7. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 6,7

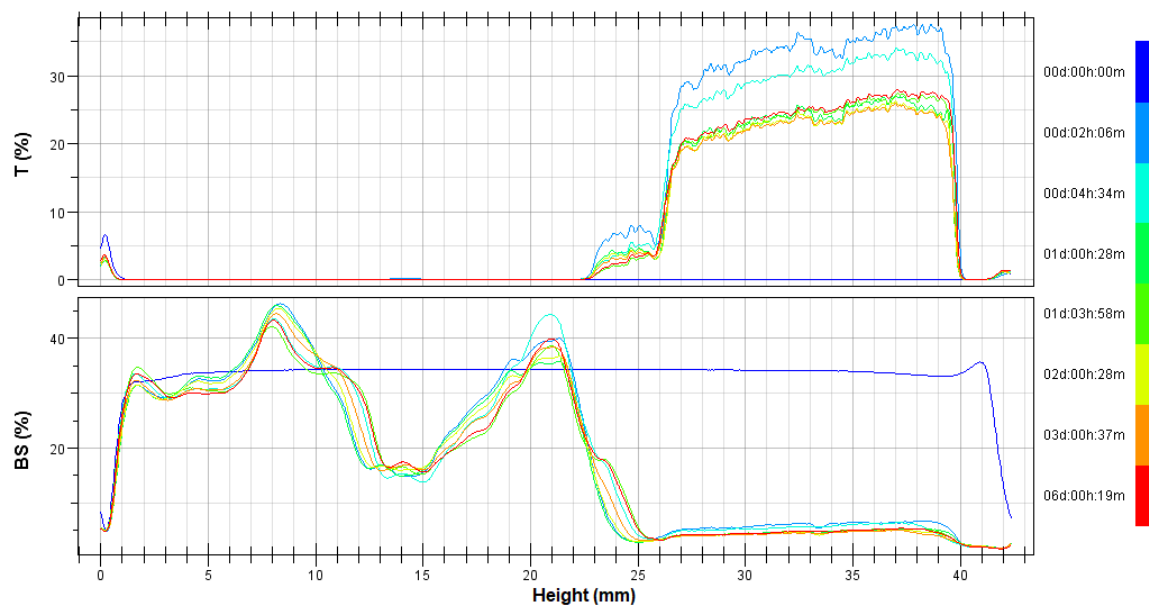


Näyte GXHMM8. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 6,7

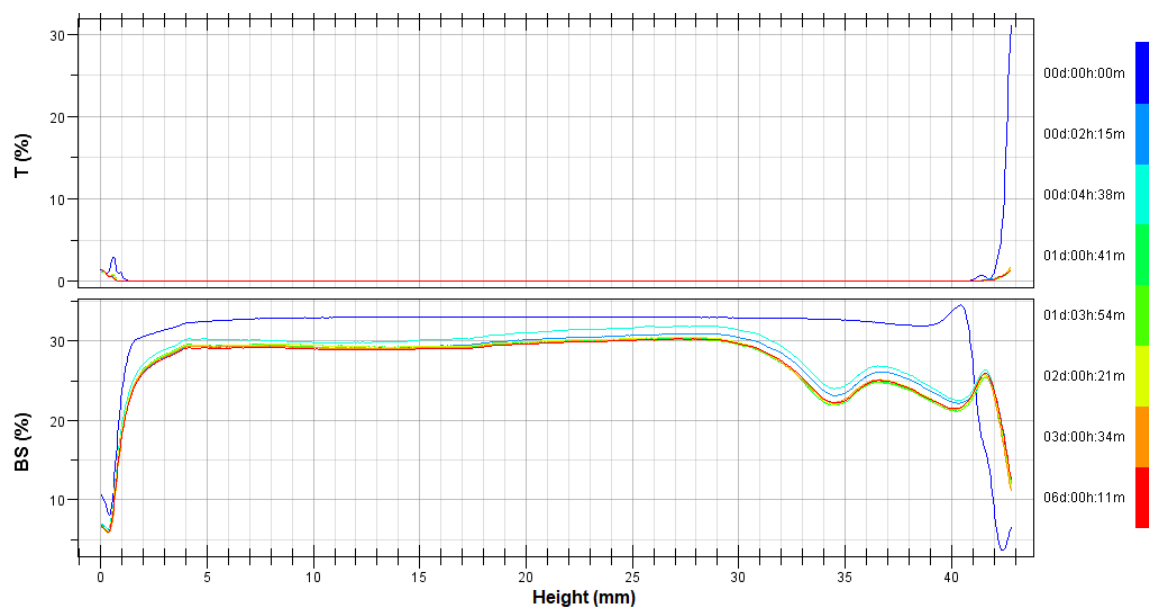


Liite 2. Näytteiden GA1–GA8 Turbiscan-analyysit. T (%) = läpi mennyt valo (transmission), BS (%) = takaisin sirounut valo (backscattering).

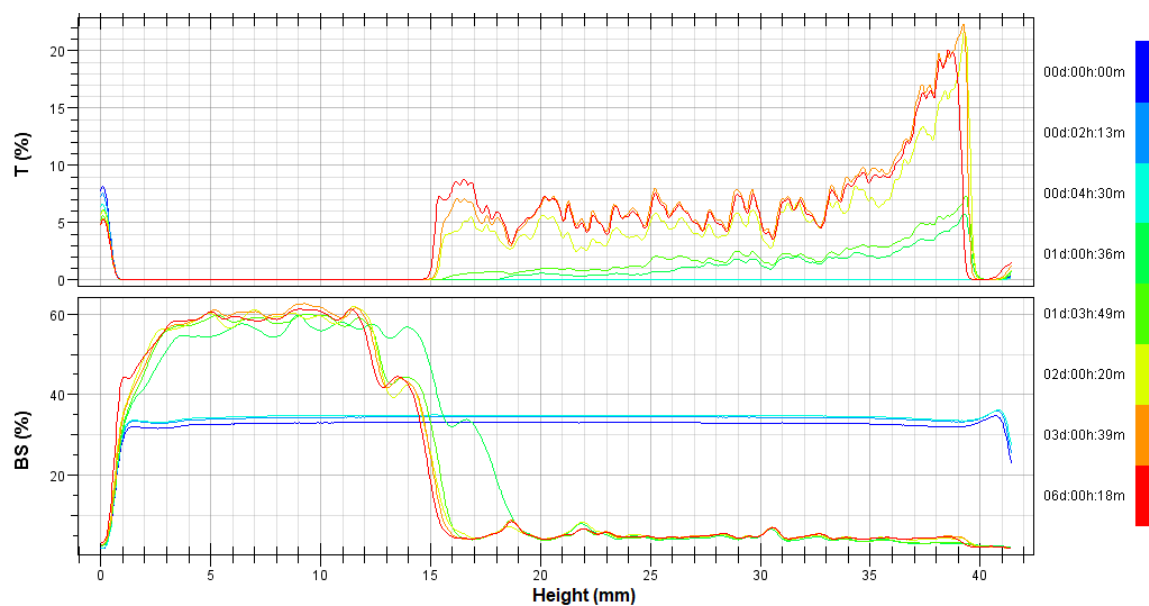
Näyte GA1. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 4,6



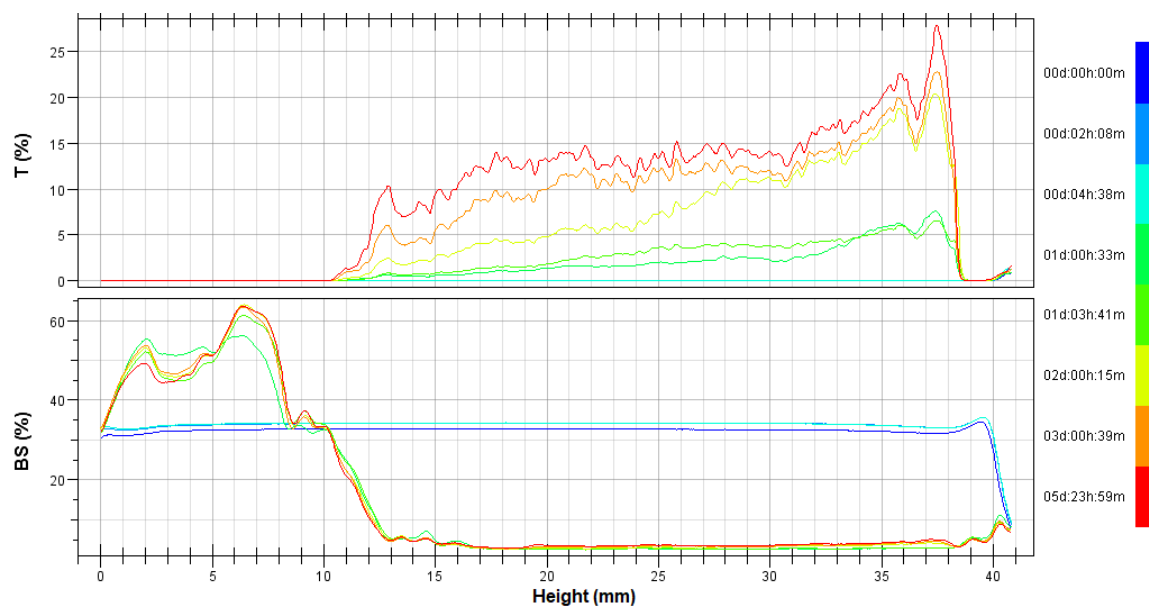
Näyte GA2. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 4,6



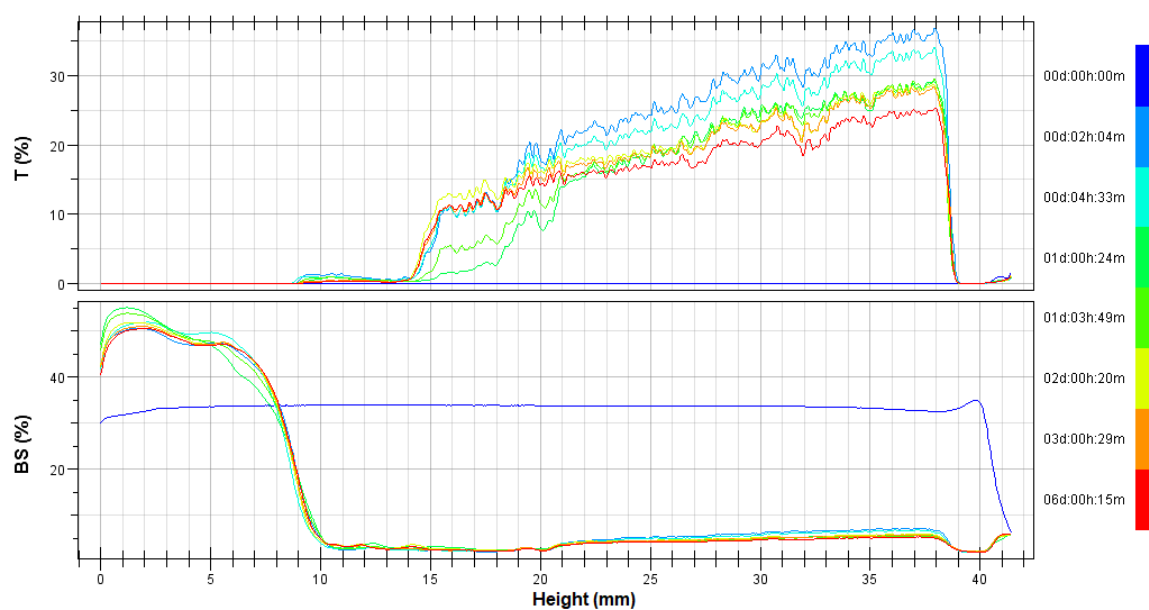
Näyte GA3. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 6,7



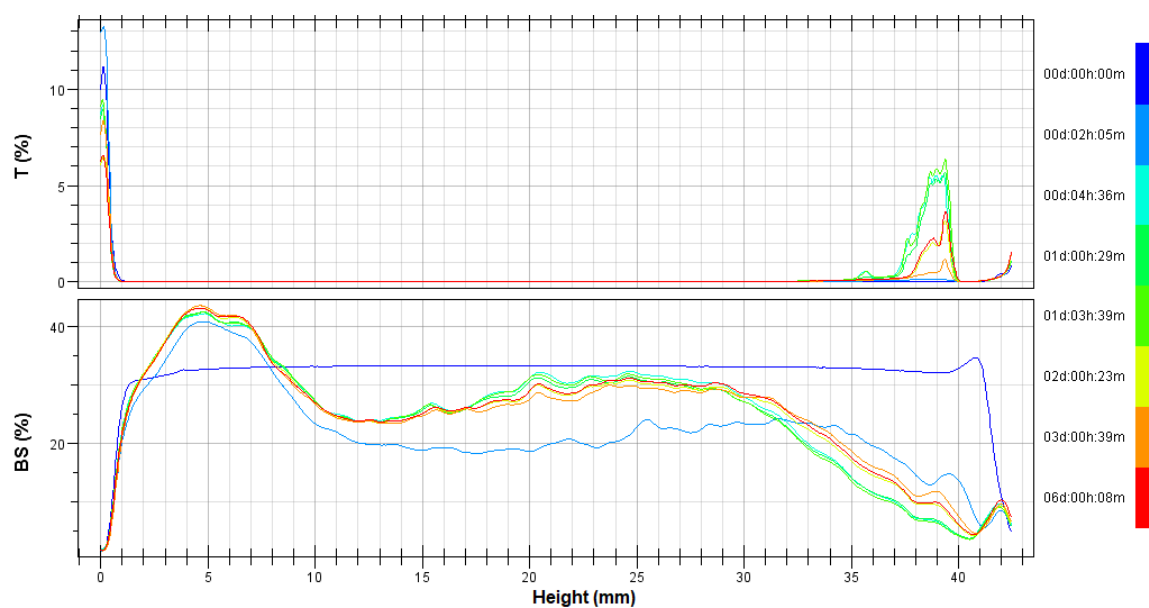
Näyte GA4. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 6,7



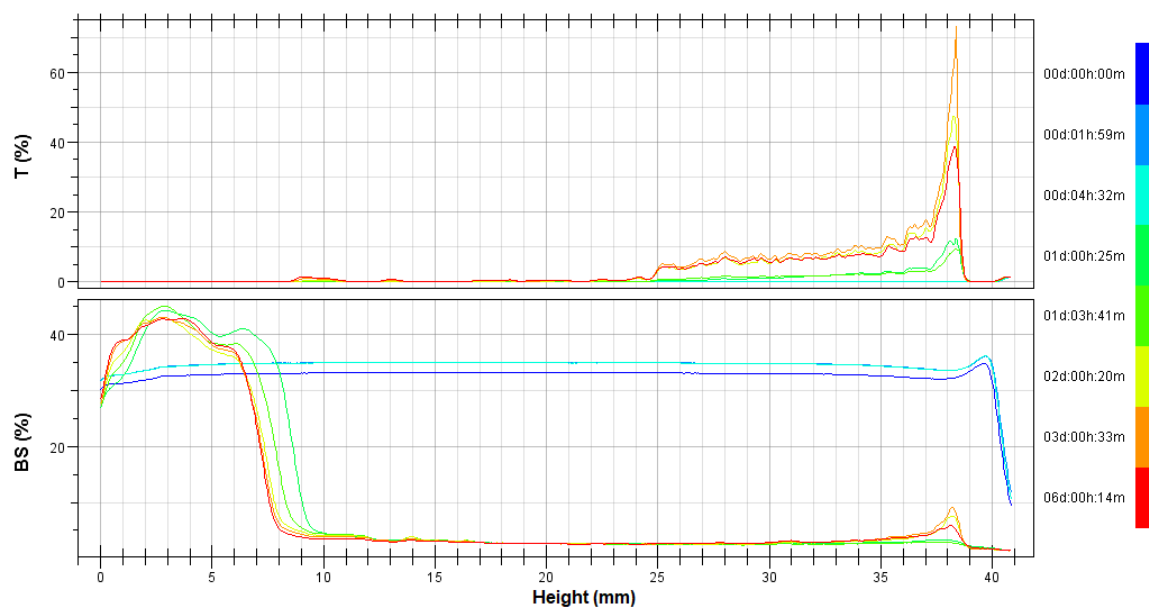
Näyte GA5. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 4,6



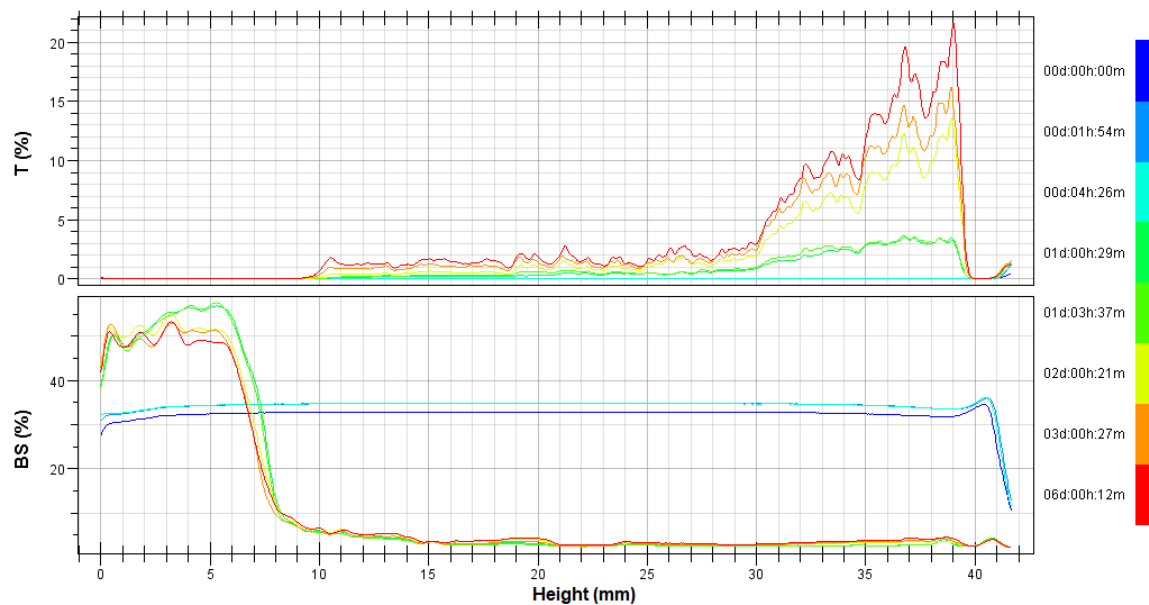
Näyte GA6. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 4,6



Näyte GA7. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 6,7

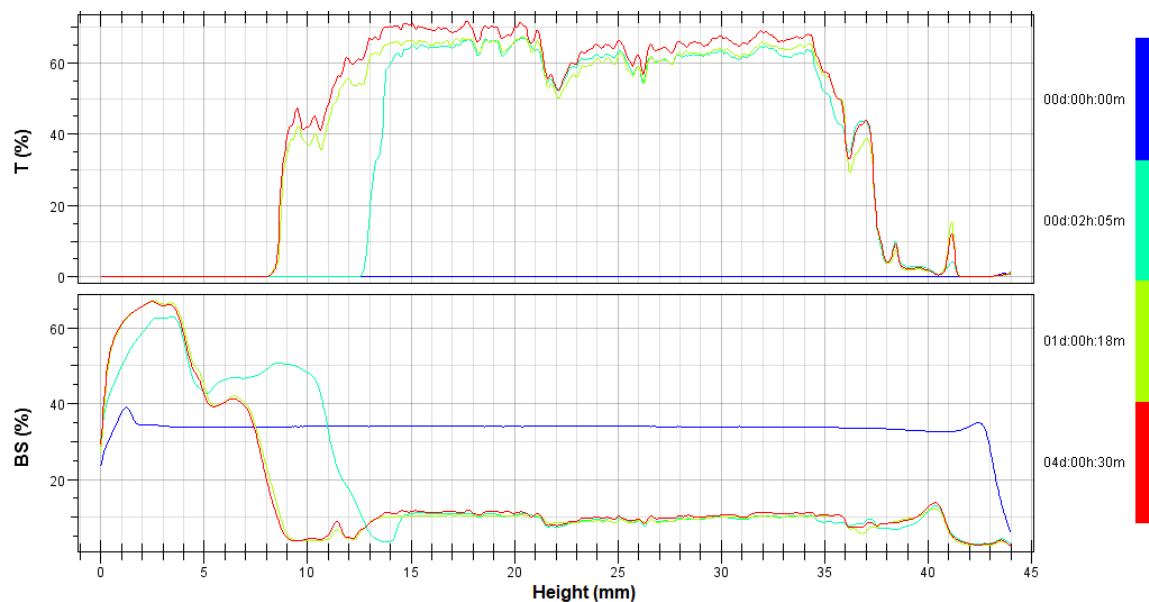


Näyte GA8. Proteiini 3,7 %, arabikumi 0,5 %, tuhkapitoisuus 0,6 %, pH 6,7

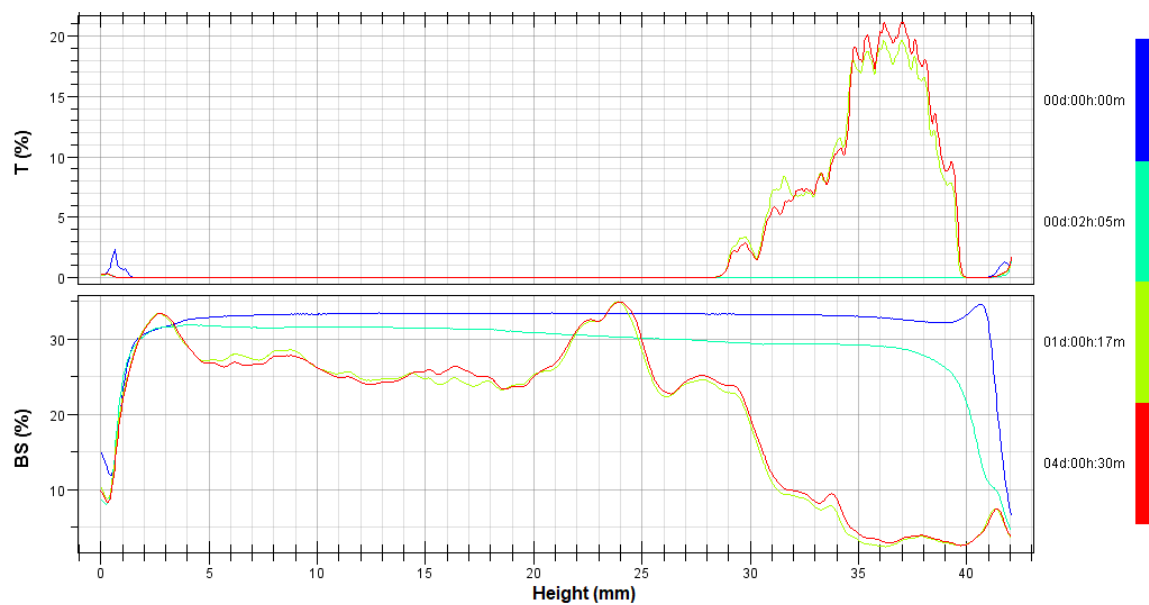


Liite 3. Näytteiden P3–P5 ja GXHMM9–GXHMM14 Turbiscan-analyysit. T (%) = läpi mennyt valo (transmission), BS (%) = takaisin sirounut valo (backscattering).

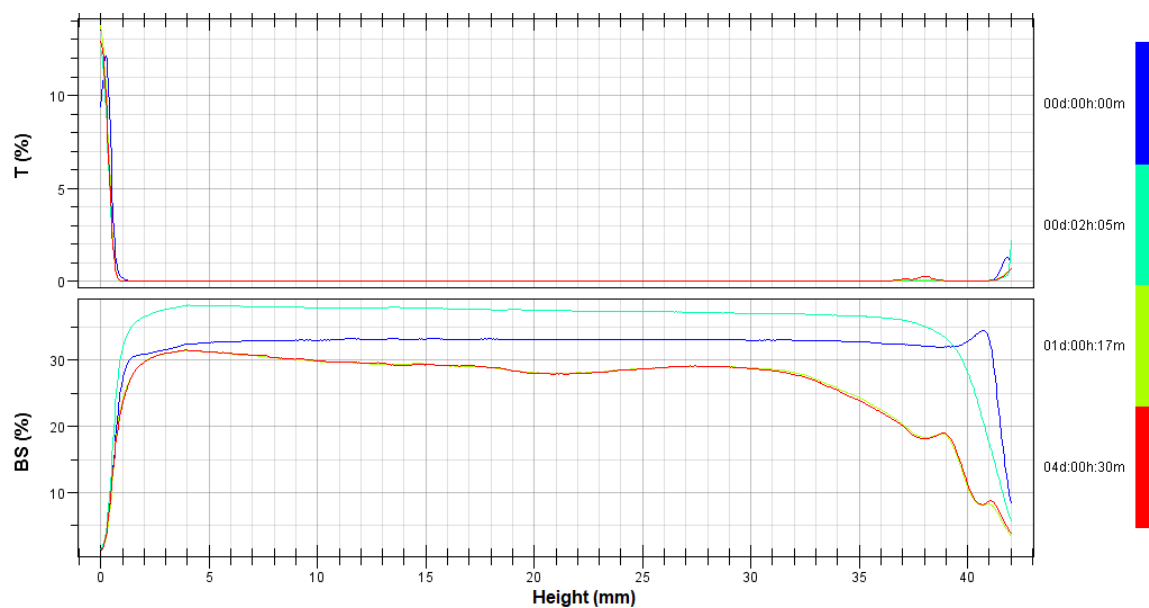
Näyte P3. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani 0 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 4,6



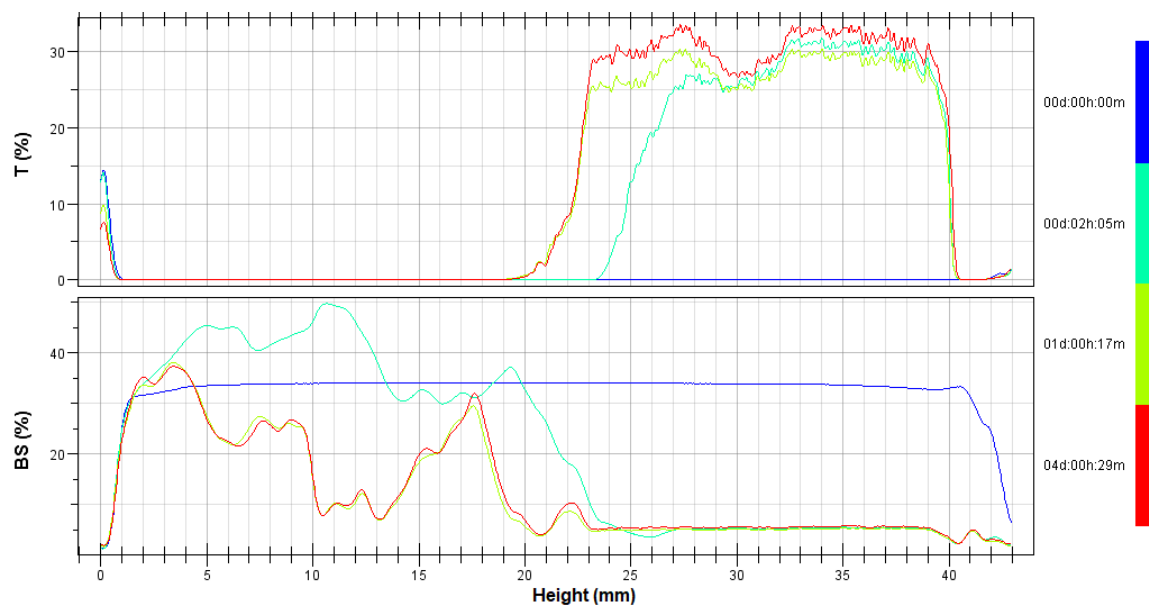
Näyte P4. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani 0 %, tuhkapitoisuus 0,51 %, pH 4,6



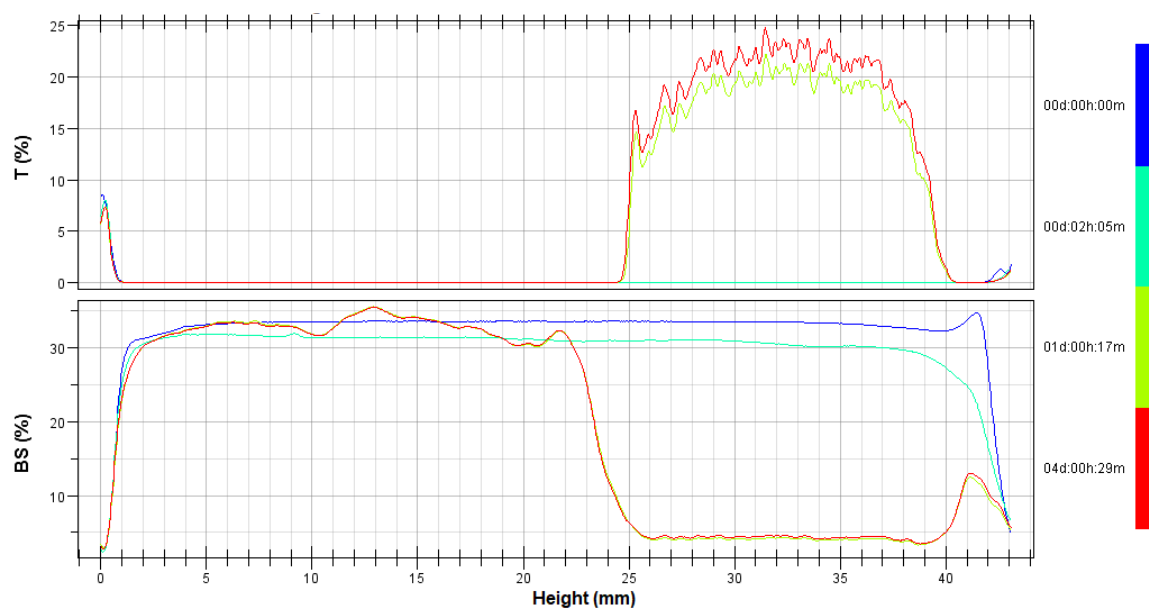
Näyte P5. Proteiini 3,7 %, glukuronoksylaani 0 %, tuhkapitoisuus 0,59 %, pH 4,6



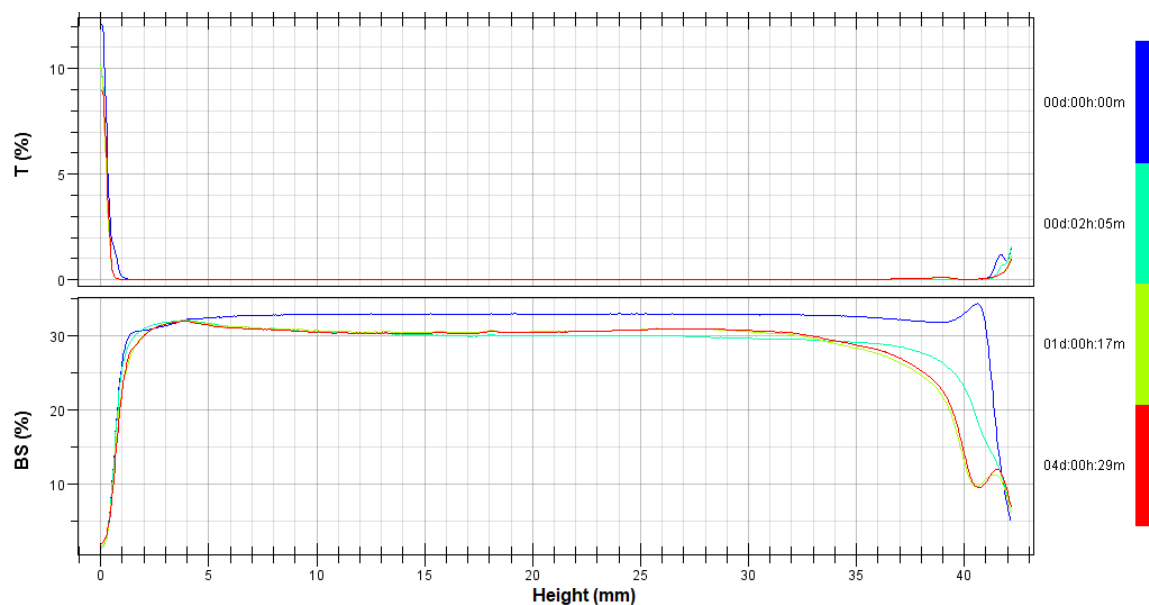
Näyte GXHMM9. Proteiini 3,7 %, glukuronoksylaani (>5 kDa) 0,125 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 4,6



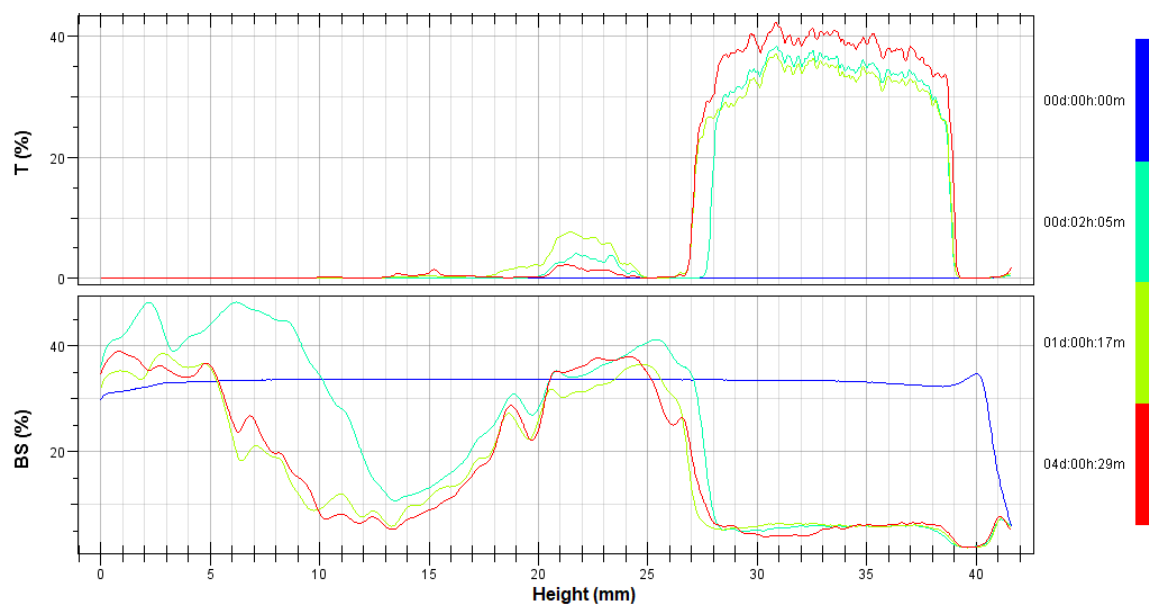
Näyte GXHMM10. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,125 %, tuhkapitoisuus 0,51 %, pH 4,6



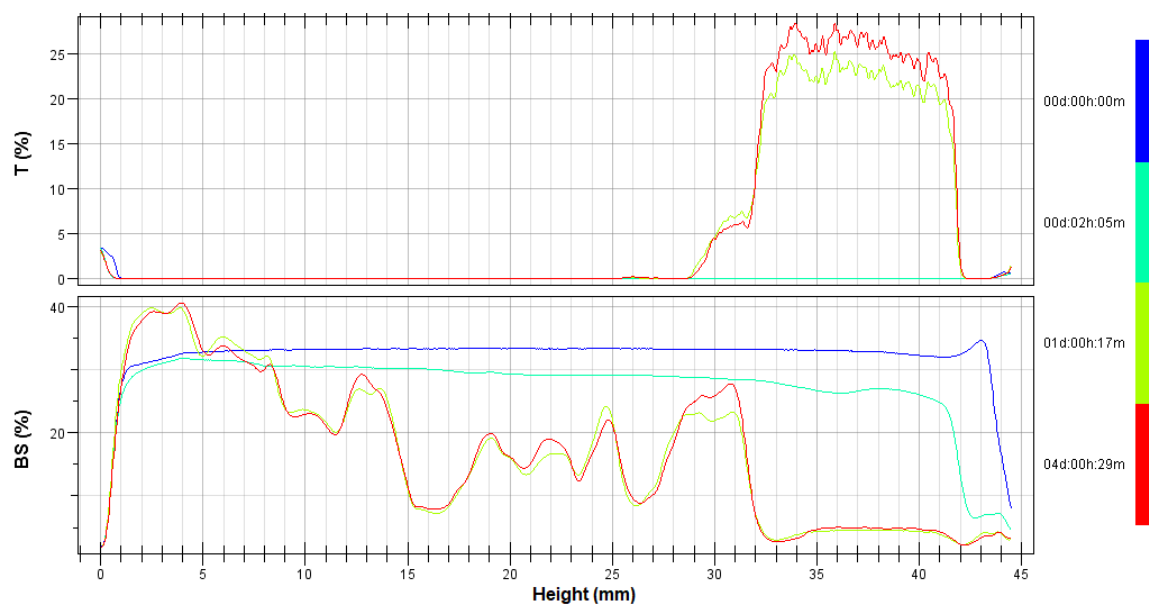
Näyte GXHMM11. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,125 %, tuhkapitoisuus 0,59 %, pH 4,6



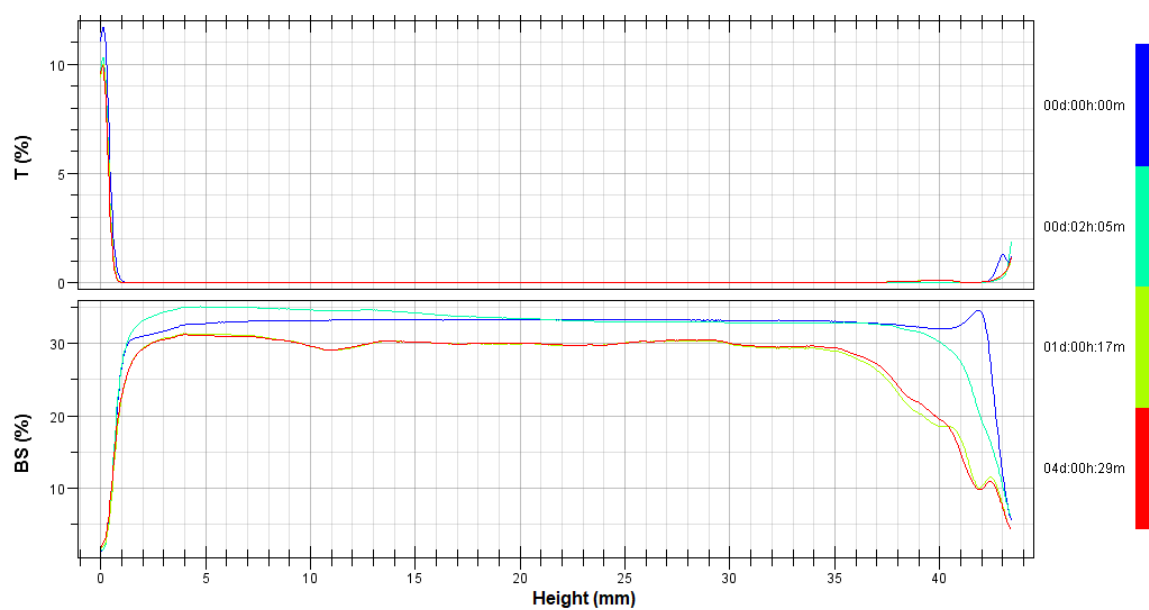
Näyte GXHMM12. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,43 %, pH 4,6



Näyte GXHMM13. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,51 %, pH 4,6

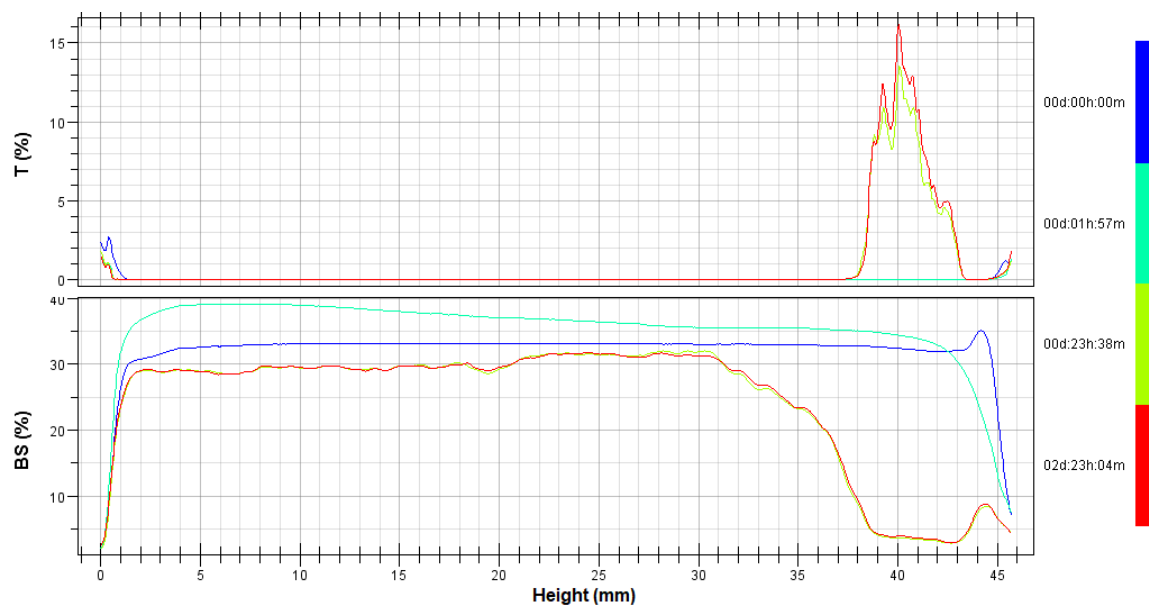


Näyte GXHMM14. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,59 %, pH 4,6

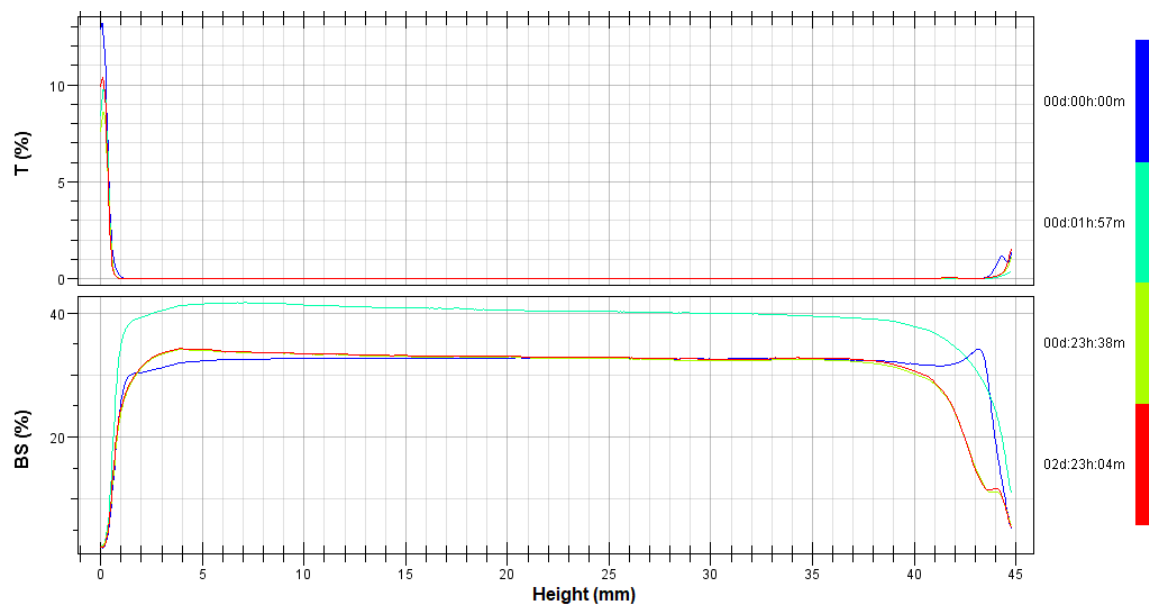


Liite 4. Tuhkapitoisuuden vaikutus glukuronoksyalaania (>5 kDa) sisältävien näytteen rakenteen pysyvyyteen (näytteet GXHMM15–GXHMM20). T (%) = läpi mennyt valo (transmission), BS (%) = takaisin siroanut valo (backscattering).

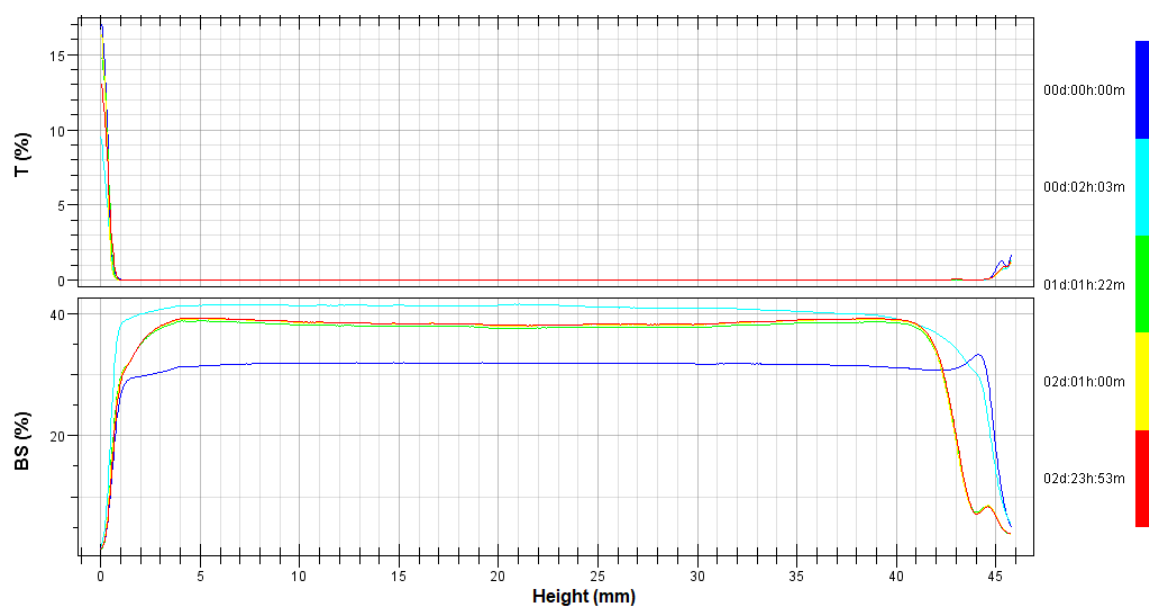
Näyte GXHMM15. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyalaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,56 %, pH 4,6



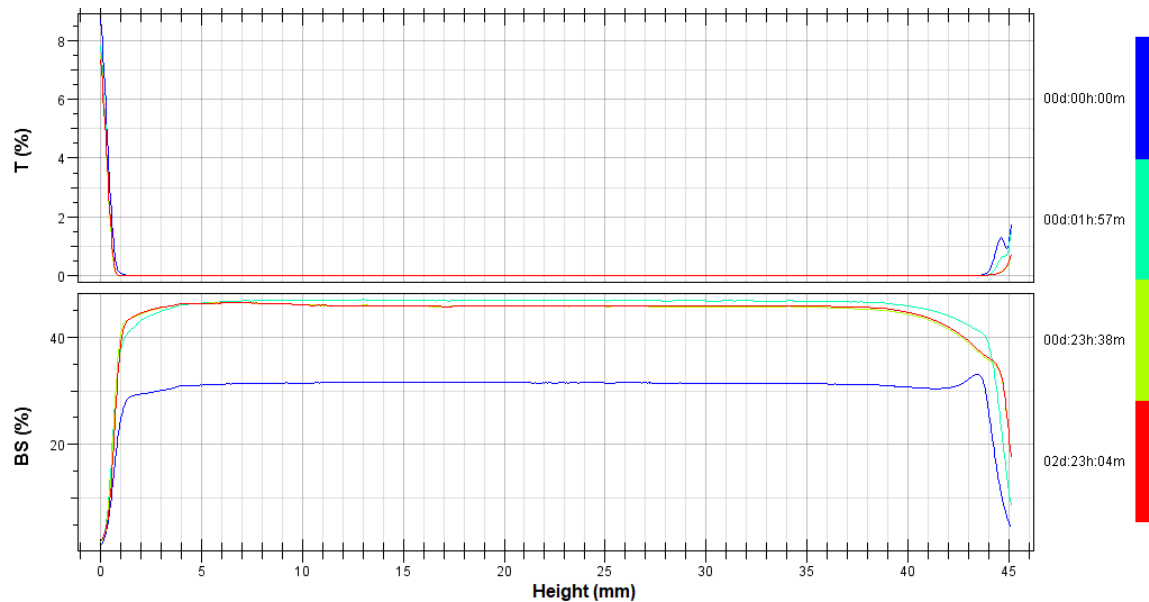
Näyte GXHMM16. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyalaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,7 %, pH 4,6



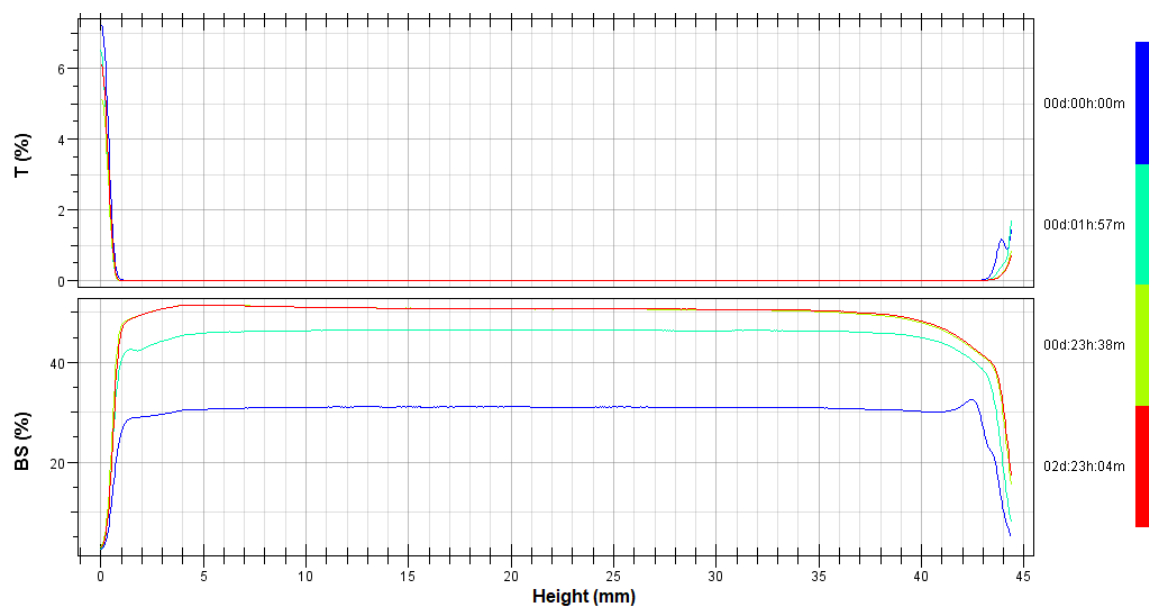
Näyte GXHMM17. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 0,88 %, pH 4,6



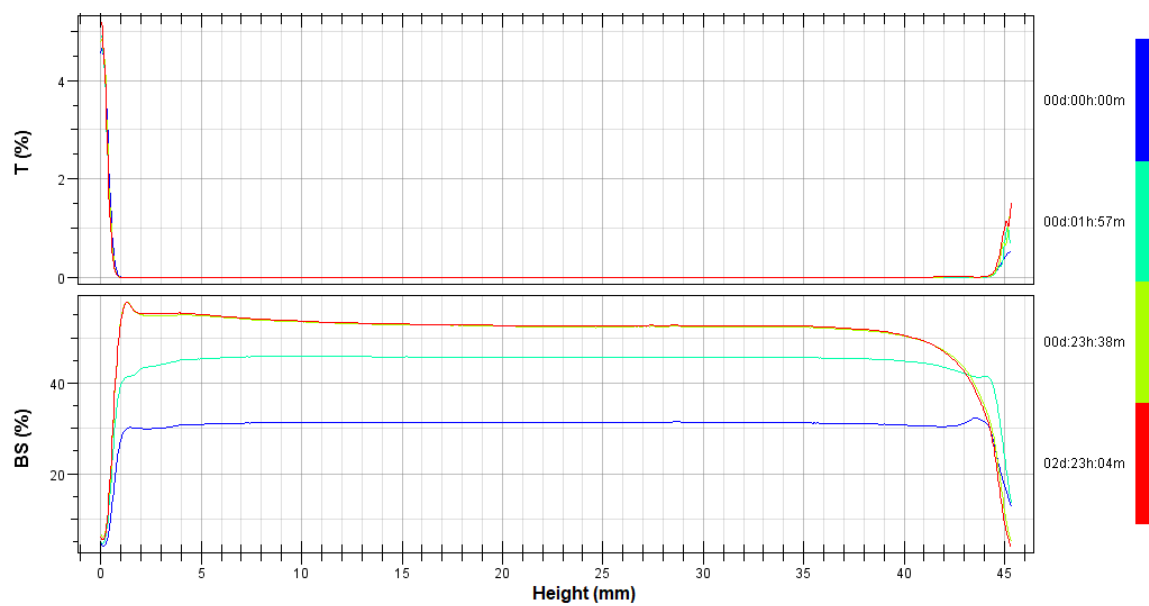
Näyte GXHMM18. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 1,05 %, pH 4,6



Näyte GXHMM19. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 1,23 %, pH 4,6



Näyte GXHMM20. Proteiini 3,7 %, glukuronoksyylaani (>5 kDa) 0,25 %, tuhkapitoisuus 1,4 %, pH 4,6



Liite 5. Jogurttinäytteiden Turbiscan-analyysit. Näytteiden säilytyslämpötila 5 °C. T (%) = läpi mennyt valo (transmission), BS (%) = takaisin siroonnut valo (backscattering).

